Das Kallikrein-Kinin-System als Mediator des vasogenen Hirnödems

Andreas Unterberg

1982

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546825_0005

Aus dem Institut für Chirurgische Forschung der Universität München,
Klinikum Großhadern

Vorstand: Prof.Dr.Dr.h.c. W. Brendel

DAS KALLIKREIN-KININ-SYSTEM ALS MEDIATOR DES VASOGENEN HIRNÖDEMS

-Eine experimentelle Untersuchung-

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Andreas Unterberg
aus Schwelm/Westfalen

1982

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.med.A. Baethmann
Mitberichterstatter: Prof.Dr.med.Dr.h.c.W. Brendel
Dekan: Prof.Dr.med.W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung: 7.Oktober 1982

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. MATERIAL UND METHODEN	4
1) Versuchstiere	4
2) Versuchsablauf	4
3) Untersuchungsmaterial	8
4) Untersuchungsmethoden	8
5) Statistische Auswertung	12
C. ERGEBNISSE	13
1) Perfusionsdruck und -geschwindigkeit	14
2) Cerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt	16
3) Gewebsmetabolite	24
4) Veränderungen des Perfusates während ventriculo-cisternaler Perfusion	26
14-C-Inulin-Aktivität	26
Liquorsekretionsrate	28
pH	30
Osmolarität	31
Glukose	32
Lactat	34
Pyruvat	35
LDH-Aktivität	36
Glutamat	37
Na^+-Konzentration	39
K^+-Konzentration	40
Kininogene	42
Kinine	45
5) Blut-Hirn-Schranken-Funktion	47

Seite

D. DISKUSSION 48

1) Bemerkungen zu Material und Methoden 48
a) Die ventriculo-cisternale Perfusion 48
b) Künstlicher Liquor 49
c) Versuchstiere 50
d) Kinin-Bioassay 50

2) Mediatorsubstanzen des Hirnödems 51
a) Konzept der Mediatorsubstanzen 51
b) Bisher untersuchte Substanzen 53
(1) Lysosomale Enzyme 53
(2) Biogene Amine 54
(3) Prostaglandine 55
(4) Lipide und freie Radikale 55
(5) Glutamat 56

3) Das Kallikrein-Kinin-System als Mediator des Hirnödems 57
a) Physiologie und Pathophysiologie des KKK-Systems 57
(1) Komponenten 57
(2) Allgemeine Wirkungen 60
(3) Wirkungen im ZNS 61
(4) Beteiligung bei cerebralen Erkrankungen 63
b) Das KKK-System bei der ventriculo-cisternalen Perfusion 66
(1) Perfusion mit Bradykinin 66
(2) Perfusion mit Plasma 67

Seite

4) Wirkungen der ventriculo-cisternalen Perfusion mit Bradykinin und homologem Plasma 70
a) Cerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt 70
(1) Bradykinin-Perfusion 72
(2) Plasmaperfusion 75
b) Cerebraler Energiestoffwechsel 77
c) Weitere Anhaltspunkte toxischer Mechanismen 79

5) Rolle des KKK-Systems für die Entstehung des Hirnödems nach Ventrikelperfusion mit Plasma 84

6) Schlußfolgerung und Ausblick 88

E. ZUSAMMENFASSUNG 91

F. LITERATURVERZEICHNIS 93

A. EINLEITUNG

Das Hirnödem ist unabhängig von der primären Ursache, die im Einzelfall zugrunde liegt, eine Wassergehaltserhöhung des Hirnparenchyms, die zu einer Massen- und Volumenzunahme des Hirngewebes führt (142).

Untersuchungen über Entstehung und Ausbreitung des Hirnödems haben die Existenz zweier unterschiedlicher Ödemformen (nach KLATZO, 107), nämlich eines zytotoxischen, primär intrazellulär lokalisierten und eines vasogenen, primär extrazellulär lokalisierten Ödems gezeigt. Dennoch sind viele Details und Mechanismen bis heute unklar, insbesondere ist die Therapie nach wie vor unbefriedigend.
Die derzeit durchgeführte Therapie des Hirnödems (z.B. mäßige Hyperventilation, hyperosmolare Lösungen) ist symptomatisch. Ob Steroide das perifokale Hirnödem (68, 150, 155) kausal beeinflussen, ist unbekannt.
Eine kausale Therapie setzt präzise Kenntnisse über die Entstehungsmechanismen im einzelnen voraus, über die wir im Augenblick nicht verfügen, z.B. welche Vorgänge für die Entwicklung, Ausbreitung und Aufrechterhaltung des Ödems verantwortlich sind und wie ihre Wirkungsweise zu hemmen oder zu unterbrechen ist.

Dem vasogenen Hirnödem (nach KLATZO, 107) liegt als auslösende Ursache ein Defekt der Blut-Hirn-Schranke zugrunde, wodurch es zum Einstrom eines Plasma-ähnlichen Filtrates (34, 140, 144) ins Hirnparenchym kommt. Der Defekt der Blut-Hirn-Schranke befindet sich bei akuten Prozessen (Schädel-Hirn-Trauma, Infarkt) im Bereich einer fokalen Nekrose. Die fokale Hirngewebsnekrose ist ein weiterer pathogenetischer Faktor für die Entstehung des vasogenen Ödems. RAPOPORT, et al. (149) konnten zeigen, daß die Eröffnung der Blut-Hirn-Schranke durch Applikation hypertoner Lösungen allein keine pathologische Wassereinlagerung im Gehirn bewirken muß. Neben der Schädigung der Blut-Hirn-Schranke muß offensichtlich eine irreversible Parenchymschädigung vorhanden sein. Es ist denkbar, daß in nekrotischem Hirngewebe neurotoxische Substanzen gebildet, freigesetzt oder aktiviert werden, die für die Persistenz des Ödems und/oder dessen Ausbreitung verantwortlich sind. Diese Substanzen, die im Hirngewebe unter physiologischen Bedingungen nicht (bzw. nicht in wirksamen Konzentrationen) vorhanden sind, können aus der Nekrose, aber auch aus dem einströmenden Plasma stammen. Ihre potentielle Wirkung ist vielfältig. Sie können, z.B. durch Aufrechterhalten der pathologi-

schen Gefäßpermeabilität oder durch zytotoxische Effekte, den Ödemprozeß unterhalten oder gar verstärken.

Von verschiedenen Substanzen ist eine Mediatorfunktion angenommen worden. Besonderes Interesse erlangten:
Lysosomale Enzyme (20, 35, 103), biogene Amine, darunter besonders Serotonin (27, 58, 135), Noradrenalin (127, 136, 151), Histamin (95, 108), Lipide (31, 114, 161, 202), Prostaglandine (94, 143), freie Radikale (49, 50, 134, 182) sowie die Aminosäure Glutamat (102, 159, 192).

Vom **Kallikrein-Kininogen-Kinin-System (KKK-System)** ist seit langem bekannt, daß die aktiven Peptide Bradykinin und Kallidin die Gefäßpermeabilität verschiedener Organe erhöhen (162, 205).
Dieses System könnte beim vasogenen Hirnödem bereits durch die Verdünnung von Plasma mit Liquor cerebrospinalis aktiviert werden. SICUTERI, et al. (170, 174) haben in-vitro nach Zugabe von Liquor zu Plasma eine Bildung von Kininen beobachtet.
OETTINGER, et al. (132) haben durch ventriculo-cisternale Perfusion mit homologem Plasma bei Ratten ein Hirnödem erzeugt. Dabei fanden sie, daß während der Ventrikelpassage Kinine freigesetzt wurden.
Untersuchungen von BLÜMEL (23) sprechen dafür, daß Kinine zu Permeabilitätsstörungen an Hirngefässen führen. Bei Kaninchen hatte die intrathekale Applikation von Serum eine Permeabilitätssteigerung der Blut-Hirn-Schranke für 125-J-Albumin zur Folge, was durch den Proteinaseninhibitor Aprotinin (Trasylol^{R}) erheblich reduziert wurde.
Diese Befunde sind Grundlage der Hypothese, daß das Kallikrein-Kinin-System ein Mediator des vasogenen Hirnödems ist.
Diese Hypothese wurde in den vorliegenden Untersuchungen überprüft. Die ventriculo-cisternale Perfusion von Hunden mit Plasma, bzw. dem aktiven Peptid Bradykinin war das Versuchsmodell, um Hirngewebe der Wirkung des KKK-Systems unter Umgehung der Blut-Hirn-Schranke direkt auszusetzen. Kontrollversuche wurden mit künstlichem Liquor durchgeführt.

Als Parameter einer Parenchymschädigung wurden der Wasser- und Elektrolytgehalt in verschiedenen Hirnarealen sowie Metabolite des Energiestoffwechsels der Hirnrinde untersucht. Hinzu kamen Bestimmungen verschiedener Metabolite und Elektrolyte im Perfusat vor und nach Ventrikelpassage, um Hinweise für eine mögliche Störung der Liquorhomöostase durch das KKK-System zu erhalten.

B. MATERIAL UND METHODEN:

1) Versuchstiere:

Als Versuchstiere wurden männliche (n=30) und weibliche (n=2) Bastardhunde mit einem durchschnittlichen Gewicht von 12,1 kg (s=3,1 kg) verwendet.

2) Versuchsablauf:

Die Versuchstiere wurden mit 30mg/kg Pentobarbital (Nembutal®,Fa. Abbott, Ingelheim) i.v. narkotisiert. Bei Bedarf wurden kleinere Dosen nachinjiziert. Hinzu kamen 1,5 mg/kg i.v. und 1,5 mg/kg i.m. Suxamethoniumchlorid (Lysthenon®,Fa. Hormon-Chemie, München) zur Relaxation, um die Tiere maschinell beatmen zu können. Die Beatmung mit O_2-angereicherter Raumluft wurde durch die kontinuierliche Messung des endexspiratorischen CO_2 (Infrarotabsorptionsspektrometrie: Ultramat M, Fa. Siemens, München) sowie durch wiederholte Blutgasanalysen (Combi-Analysator MT 33, Fa. Eschweiler & Co., Kiel) kontrolliert.
Zunächst wurden bei allen Tieren beide Aa. femorales sowie die Vene einer Hinterpfote mit Polyäthylenkathetern kanüliert. Der venöse Zugang diente der Applikation von Medikamenten und Infusionslösungen während des Versuchs. Der arterielle Blutdruck wurde fortlaufend in der linken A. femoralis mit einem Statham-Element gemessen (PD 23 ID, Fa. Gould Inc. Company, Puerto Rico). Aus der rechten A. femoralis wurden Blutproben für die Blutgasanalyse gewonnen.

Anschließend wurde die Schädelkalotte über beiden Hirnhemisphären sowie die Cisterna cerebellomedullaris bis zur Membrana atlantooccipitalis freigelegt. An topographisch definierten Punkten wurde die Schädelkalotte beidseitig mit einer Dentalbohrmaschine trepaniert (⌀ ca. 1,0-1,5 mm). Durch die Bohrlöcher wurden die Seitenventrikel mit Venenverweilkanülen (Braunüle® 0,5-G 18, Fa. Braun, Melsungen) punktiert, die mit einem kaltpolymerisierenden Kunststoff (Paladur®, Fa. Kulzer, Bad Homburg) an der Schädelkalotte fixiert wurden.
Ein weiterer Polyäthylenkatheter wurde in die Cisterna cerebellomedullaris eingeführt und mit einem Gewebekleber (Histoacryl®,Fa. Braun, Melsungen) an der Membrana atlanto-occipitalis befestigt. Die Durchgängigkeit der Katheter und des

Ventrikelsystems wurde durch Probeperfusion mit künstlichem Liquor (modifiziert nach MERLIS, 123) geprüft. Bei Ansteigen des Perfusionsdruckes wurden die Positionen der Infusionskanülen revidiert.
Daran schloß sich eine 30-minütige Perfusion mit künstlichem Liquor als Kontrollperiode an.

Die Perfusion wurde mit einem Perfusor (Typ 71022, Fa. Braun, Melsungen) und einer Flußgeschwindigkeit von je 0,5 ml/min (insgesamt 1 ml/min) durchgeführt. Der Perfusionsdruck wurde im Nebenschluß mit einem Statham-Element (s.o.) kontinuierlich bestimmt. Die Höhe des Perfusionsdruckes wurde durch Justierung des Cisternenkatheters eingestellt. Zu Beginn wurde er auf 10 mmHg eingeregelt. Der arterielle Blutdruck als auch der Perfusionsdruck wurden über die gesamte Versuchszeit hinweg mit einem Mehrkanalschreiber (Kompensograph®, Fa. Siemens, München) aufgezeichnet.

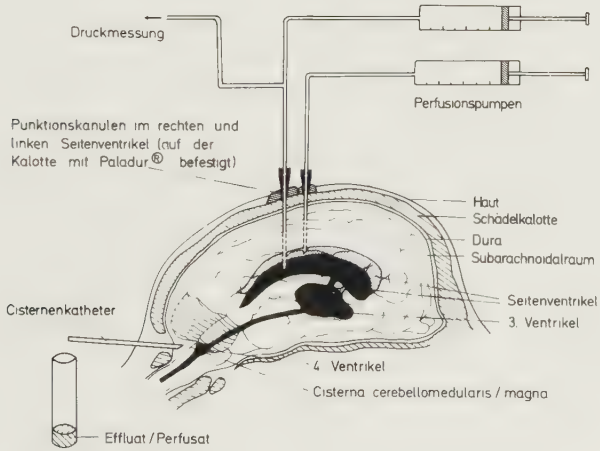

Abbildung 1: Schematische Darstellung der ventriculo-cisternalen Perfusion.

Im Anschluß an die Vorperfusion wurden die Tiere der Kontrollgruppe (n=8) drei Stunden mit künstlichem Liquor perfundiert. Vor jedem Versuch wurde der pH-Wert des Perfusats auf 7,35 und die Osmolarität auf 305 mosmol/l eingestellt. Die Beschaffenheit dieser Perfusionslösung ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1:

Künstlicher Liquor

pH	7,35	
Osmolarität	305	(mosmol/l)*
Na^+	147-150	(mEq/l)
K^+	2,9-3,0	(mEq/l)
Ca^{++}	2,5	(mEq/l)
Mg^{++}	1,7	(mEq/l)
Glukose	3,0-3,3	(mmol/l)
	(=54-60	mg%)
H_2PO_4/HPO_4 - Puffer		
Inulin (Fa. Boehringer, Mannheim)	0,1	(mmol/l)
14-C-Inulin (Fa. Amersham/ Buchler,Braunschweig)	0,5-1,0 (µmol/l) = ca. 4 µCi/l	

* Bei Bedarf wurde die Osmolarität mit 20%iger Mannitol-Lösung korrigiert.

Die Ventrikel der Versuchstiere der Gruppe II (n=13), wurden 180 Minuten mit homologem Plasma perfundiert.

Zu dessen Gewinnung wurde Spenderhunden in Pentobarbitalnarkose (30 mg/kg Nembutal®, Fa. Abbott, Ingelheim) arterielles Blut entnommen, heparinisiert (500 IE Heparin/100 ml Vollblut; Thrombophob®, Fa. Nordmark, Hamburg) und bei 3000 U/min 20 Minuten zentrifugiert. Dem Plasmaperfusat wurde 14-C-markiertes Inulin beigemischt. Das pH wurde mit H_2PO_4/HPO_4 auf 7,35 eingestellt.

Die Tiere der Gruppe III (n=10) wurden mit Bradykinin (10 mg Bradykinintriazetat/l, Fa. Serva, Heidelberg) im künstlichen Liquor (s. Tabelle 1) perfundiert. Die Perfusionsdauer betrug ebenfalls 3 Stunden.

Die Perfusionslösungen wurden vor Gebrauch auf 37° C erwärmt. Das aus der Cisterne ausfliessende Effluat wurde am Ende der Vorperfusionsperiode und in 30-minütigen Abständen (30, 60, 90, 120, 150 und 180 Min.) gesammelt.

Während der Perfusion erhielten die Tiere je nach Bedarf Pentobarbital (Nembutal®), Suxamethoniumchlorid (Lysthenon®), 8,4%iges Natriumbikarbonat zur Korrektur des Säure-Basen-Haushaltes (nach Blutgasanalyse) und ca. 30 ml/kg physiologische NaCl-Lösung.

Um eine Eröffnung der Blut-Hirn-Schranke durch die Perfusion mit Plasma oder Bradykinin zu erkennen, wurde allen Tieren 2 Stunden vor Versuchsende 2 ml/kg einer 2%igen, sterilen Evans blue-Lösung langsam intravenös appliziert.

Nach Perfusionsende wurden die Tiere großzügig trepaniert. Bei den Hunden der Gruppen I und II (künstlicher Liquor und Plasma) wurde nach Eröffnung der Dura mit Hilfe der von SCHMIEDEK, et al. (163) entwickelten Kryostanze eine Hirnrindenprobe im Gefrierstopverfahren gewonnen. Nach Kreislaufstillstand durch Injektion von 20 ml gesättigter KCl-Lösung wurde das freigelegte Gehirn entnommen. Das Großhirn wurde vom Hirnstamm getrennt und in der Medianebene aufgeteilt. Aus der Hirnrinde, dem Nc. caudatus und der weißen Substanz wurden Gewebsproben genommen.

Abschließend wurde das Gehirn makroskopisch untersucht, ob es zur Anfärbung mit Evans blue gekommen war.

3) Untersuchungsmaterial:

(1) Hirngewebe
   a) Hirnrinde, Gefrierfixation
   b) Hirnrinde, Nucleus caudatus, Hirnmark

(2) Perfusionslösungen und Effluate
   a) Künstlicher Liquor (mit und ohne Bradykinin)
   b) Plasma
   c) Cisternale Effluate nach Perfusion

Mit diesem Material wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

4) Untersuchungsmethoden:

a) Labile Metabolite des Energiestoffwechsels:

Die mit flüssigem Stickstoff tiefgefrorenen Hirnrindenproben wurden bis zur Bestimmung der Metabolite bei -60° bis -80° C aufbewahrt. Zur Messung wurden sie unter flüssigem Stickstoff pulverisiert, anschließend mit 6 %iger Perchlorsäure enteiweißt und 10 Minuten bei -10° C und 4-5000 U/min zentrifugiert. Der Überstand wurde mit 1m K_2CO_3 neutralisiert. Nach erneuter Zentrifugation wurden die Metabolite aus dem Überstand mit enzymatisch-optischen Tests bestimmt (Biochemische Reagenzien: Fa. Boehringer, Mannheim; Photometer Eppendorf: Fa. Netheler u. Hinz, Hamburg).

Adenosintriphosphat (ATP) und Creatinphosphat (CP) wurden nach LAMPRECHT (116, 117), Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosinmonophosphat (AMP) nach JAWOREK (93), Lactat nach HOHORST (83) und Pyruvat nach CZOCK (43) gemessen.

Der Lactat-Pyruvat-Quotient wurde aus den Lactat- und Pyruvatkonzentrationen rechnerisch ermittelt, das energy charge potential (ECP) nach ATKINSON (6):

$$ECP = \frac{(ATP) + 0{,}5\ (ADP)}{(ATP) + (ADP) + (AMP)}$$

b) Wasser- und Elektrolytgehalt des Gewebes:

Der Wassergehalt ergab sich aus der Differenz zwischen Frisch- und Trockengewicht nach Trocknen der Proben bei 110° C über 48 Stunden bis zur Gewichtskonstanz (152).

Zur Bestimmung des Na^+- und K^+-Gehaltes wurde das getrocknete Gewebe gemörsert und nach Zugabe von ca. 1 ml/10 mg Trockengewebe einer 60%igen HNO_3-Lösung 30 Min. im kochenden Wasserbad feucht verascht.
Nach Zugabe von ca. 1ml 30%iger H_2O_2 (Perhydrol®, Fa. Merck, Darmstadt) wurden die Proben filtriert und auf 10ml aufgefüllt. Mit jedem Bestimmungsansatz wurden zwei Blancs und zwei Na^+-Standardproben mitgeführt. Die flammenphotometrische Bestimmung (Flammenphotometer Eppendorf: Fa. Netheler und Hinz, Hamburg) der Natrium- und Kaliumkonzentrationen erfolgte unter Berücksichtigung des im Blanc ermittelten Leerwertes. Zur Kalibrierung wurden 5 Na^+- und 3 K^+-Eichstandards in aufsteigenden Konzentrationen verwendet, die HNO_3 in gleichen Konzentrationen wie die Probenlösungen enthielten.

c) Perfusatbestimmungen:

14-C-Inulin:

0,1g des Perfusats bzw. Effluats wurden durch Zugabe von 0,2 ml einer 60%igen Salpetersäure und 0,2 ml 30%iger H_2O_2 feucht verascht, anschließend mit 10ml Äthylenglycolmonoäthyläther (Fa. Merck, Darmstadt) als Lösungsvermittler und 10ml Toluol (+6g/l 2,5-Diphenyloxazole, Fa. Packard Instruments, USA) versetzt. Nach halbstündiger Kühlung bei +4° C wurde die 14-C-Aktivität im ß-

Szintillationszähler (Liquid Szintillation, Spectrometer No.1355, Fa. Packard, USA) 100 Minuten lang ausgezählt.
Die spezifische Aktivität der Probe (Impulse/min x g) wurde nach Subtraktion der Hintergrundaktivität ermittelt. Wegen der unterschiedlichen Aktivitäten von 14-C-Inulin im Perfusat wurde die Radioaktivität der cisternalen Effluatproben in Prozent der korrespondierenden Perfusionslösung angegeben.

pH-Wert:

Für die Messung des pH wurden die Perfusatproben unter Luftabschluß gewonnen, um eine Verfälschung durch CO_2 -Diffusion aus den Proben zu verhindern. Die pH-Messungen erfolgten in einem Blutgasanalysator (Combi-Analysator MT 33, Fa. Eschweiler und Co., Kiel).

Osmolarität:

Die Osmolarität wurde durch Gefrierpunktserniedrigung mit einem Halbmikroosmometer (Fa. Knauer, Berlin) bestimmt.

Glukose, Lactat und Pyruvat:

Um Bestimmungsfehler durch Erythrozytenbeimengungen im Effluat zu vermeiden, wurden die Proben zunächst bei 2000 U/min während 10 Min. zentrifugiert. Glukose wurde nach BERGMEYER (16), Laktat nach HOHORST (83) und Pyruvat nach CZOCK (43) bestimmt (Biochem. Reagenzien: Fa. Boehringer, Mannheim).

Lactatdehydrogenase-Aktivität (LDH) und Glutamat:

Die Aktivität der LDH wurde nach BERGMEYER (17) und Glutamat nach BERNT (19) bestimmt (Biochem. Reagenzien: Fa. Boehringer, Mannheim).

Elektrolyte:

Nach geeigneter Verdünnung (1:20 für K^+ und 1:200 für Na^+) wurden die Elektrolytkonzentrationen im Perfusat flammenphotometrisch (Flammenphotometer Eppendorf: Fa. Netheler u. Hinz, Hamburg) gemessen.

Kinine:

Die Bestimmung der Kininkonzentration im Perfusat erfolgte nach dem vom DINIZ, et al. (52) angegebenen und von MANN, et al. (122) modifizierten Bioassay unter Verwendung eines mit Östrogen sensibilisierten Rattenuterus (87). In einem mit O_2 und CO_2 begasten Gewebebad wird ein Horn eines Rattenuterus an einen Dehnungsmeßstreifen (Statham^R, Fa. Statham, USA) gehängt und durch Zugabe von Kininen zur isotonischen Kontraktion gebracht. Die Kininapplikation führt zu einem Kontraktions-, Relaxations-, Kontraktionszyklus mit einer dazwischen liegenden Restkontraktur. Die Höhe der Restkontraktur ist der Bradykininkonzentration im Gewebebad proportional. Nach Eichung mit bekannten Kininkonzentrationen (Bradykinin-Standard der Fa. Sandoz, Basel) wird die Kininkonzentration der Effluatprobe ermittelt.
Die Variationsbreite (=Spannweite) für verschiedene Ansätze dieses Bioassays liegt nach Angaben von MANN, et al. (122) bei 3%. Wir fanden eine Variationsbreite zwischen 5% und 10%.

Kininogene:

Zur Bestimmung der Kininogenkonzentration wurde das im Perfusat enthaltene Kininogen nach dem von DINIZ, et al. (52) angegebenen Verfahren zunächst in Kinine umgewandelt und nach der o.e. Methode gemessen:

0,2 ml Plasma werden 5 ml 0,1 n Essigsäure zugesetzt und auf 100° C für 30 Minuten zur Inaktivierung von Kininogenasen und Kininasen erhitzt. Anschließend werden zur Neutralisierung 0,2 ml 0,2 n NaOH, 1,5 ml 0,3 m Tris-Puffer (pH 7,8) zugefügt. Durch Zugabe von 0,5 ml Trypsin (1 mg/ml, Trypure® Novo stabilisiert, Fa. Novo-Industrie, Mainz) und 25 Minuten Inkubation bei 37° C erfolgt die Liberierung von Kininen aus Kininogenen. Die Reaktion wird durch 0,4 ml Aprotinin (Trasylol®, 20.000 Kallikrein-Inhibitor-Einheiten/ml, Fa. Bayer, Leverkusen), einem polyvalenten Proteinasen-Inhibitor, beendet. Bis zur Durchführung der Messung werden die Proben in tiefgefrorenem Zustand (-20° C) aufbewahrt.

5) Statistische Auswertung:

Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben wurde mit dem t-Test nach STUDENT, zweier abhängiger Stichproben mit dem t-Test für paarige Stichproben durchgeführt.
Ergab sich bei der obligaten Prüfung auf Nicht-Normalität nach DAVID (160), daß keine Normalverteilung vorliegt (kritische Grenzen des Quotienten Spannweite/Standardabweichung bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10% über- bzw. unterschritten), wurde der Vergleich unabhängiger Stichproben mit dem U-Test von WILCOXON, MANN und WHITNEY (160), der Vergleich abhängiger Stichproben mit dem WILCOXON-Test für Paardifferenzen (160) angestellt.
Zur Sicherung der gegenseitigen Abhängigkeit zweier Parameter wurde eine Regressionsfunktion berechnet und die Signifikanz des Korrelationskoeffizienten gegen Null ermittelt.

Auf den Abbildungen sind stets die Mittelwerte $\bar{x}$ sowie die Standardabweichungen der Mittelwerte $s_{\bar{x}}$ dargestellt.
In den Tabellen sind Mittelwerte $\bar{x}$ und Standardabweichungen s der Stichproben wiedergegeben.

C. ERGEBNISSE:

Tabelle 2 gibt eine Übersicht, welche Größen bei den verschiedenen Versuchsgruppen regelmäßig oder gelegentlich gemessen und ausgewertet wurden:

Tabelle 2: Bei den ventriculo-cisternalen Perfusionen gemessene Größen
x = regelmäßig bestimmt; (x)= gelegentlich bestimmt

	Künstl.Liquor (Gruppe I)	Plasma (Gruppe II)	Bradykinin (Gruppe III)
I) Allgemein:			
Perfusionsdruck	x	x	x
Perfusionsgeschwindigkeit	x	x	x
mittl.arterieller Blutdruck	x	x	x
II) Hirngewebe:			
Metabolite, Hirnrinde (Lact.,Pyr.,ATP,ADP,AMP,CP)	x	x	
Wassergehalt } Hirnrinde	x	x	x
Na^+ } in: Nc.caudatus	x	x	x
K^+ } Hirnmark	x	x	x
III) Perfusat (=Effluat):			
C-14-Inulin	x	x	x
Kininogene	(x)	x	
Kinine	(x)		x
pH	x	x	
Osmolarität	x	x	
Glutamat	x	x	x
LDH	x	x	x
Na^+	x	x	x
K^+	x	x	x
Glukose	x	x	x
Lactat	x	x	
Pyruvat	x	x	

Den Abbildungen seien einige Erläuterungen vorangestellt:

Von einigen Metaboliten bzw. Elektrolyten des Perfusats wurde der Verlauf ihrer Aufnahme bzw. Abgabe des perfundierten Gehirns berechnet und graphisch dargestellt.
Dazu wurde für jede Sammelperiode die Differenz zwischen den Konzentrationen im Perfusat (Inflow) und Effluat (Outflow) gebildet und der Mittelwert der Konzentrationsdifferenzen durch die Perfusionsgeschwindigkeit (Flow), der 1 ml/min betrug, dividiert:

$$\frac{\frac{1}{n} \cdot \sum_{k=1}^{k=n} (\text{Inflow} - \text{Outflow})_k}{\text{Flow}} \quad (\text{mmol/min})$$

1. Perfusionsdruck und -geschwindigkeit:

Der Perfusionsdruck wurde zu Beginn der Vor- und Hauptperfusion bei einer Perfusionsgeschwindigkeit von 1ml/min durch Niveauänderung der Ausflußöffnung des Zisternenkatheters auf 10 mmHg eingestellt.
Ein Anstieg des Perfusionsdrucks über 20 mmHg, wurde durch stufenweise Reduktion der Perfusionsgeschwindigkeit (auf 0,75 und 0,5 ml/min) kompensiert, um eine Schädigung durch zu hohen intrakraniellen Druck zu vermeiden. Dies war nur bei drei Versuchen notwendig.

Einzelne Druckverläufe mit Erhöhung des Perfusionsdruckes über den Kontrolldruck sind in Abbildung 2 dargestellt:

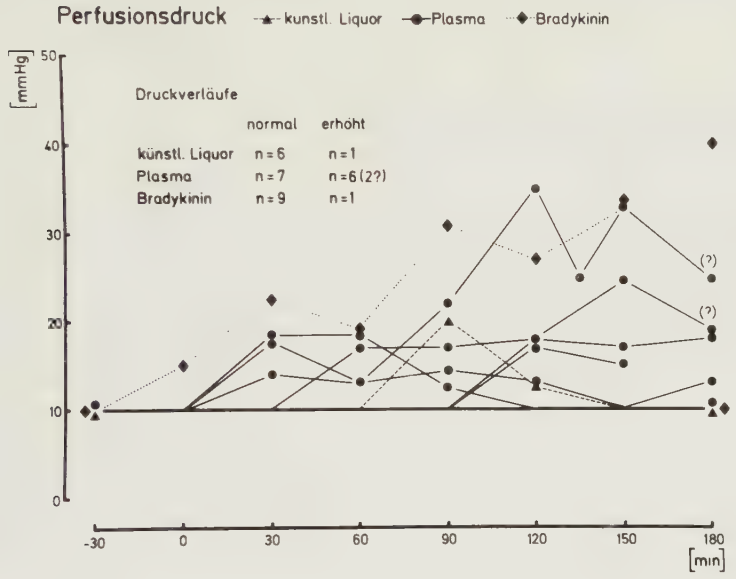

Abbildung 2: Ventriculo-cisternaler Perfusionsdruck von Versuchstieren mit Anstieg des Perfusionsdruckes über den Kontrollbereich von 10 mmHg. Die häufigsten Druckanstiege ereigneten sich bei Perfusionen mit Plasma.

Bei den Kontrollversuchen der Gruppe I war lediglich in einem Fall (1 von 8) eine vorübergehende Drucksteigerung zu beobachten.
Der Befund von OETTINGER (11), daß die Ventrikelperfusion mit Plasma bei Ratten zur intrakraniellen Drucksteigerung führt, die auch durch Senken der Perfusionsgeschwindigkeit nicht zu beherrschen ist, konnte in der Gruppe II (Plasma) mit Einschränkungen bestätigt werden:

Bei 4 von 13 Versuchen kam es zu intrakraniellen Drucksteigerungen, die nicht durch technische Artefakte hervorgerufen wurden. Bei zwei weiteren Versuchen waren mechanische Ausflußhindernisse im Perfusionsweg nicht auszuschließen.

In Gruppe III (Bradykinin) kam es bei einem von zehn Hunden zum Druckanstieg, der auch nach Reduzierung der Perfusionsrate auf 0,15 ml/min nicht zu senken war.

2. Cerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt:

Wassergehalt:

Die Veränderungen des Wassergehaltes in Hirnrinde, Nucleus caudatus und Hirnmark sind in Tabelle 3 und Abbildung 3 wiedergegeben.
Kontrolltiere (Gruppe I) hatten in der Hirnrinde einen Wassergehalt von 80,94 $\pm$ 0,85 ml/100g Frischgewicht. Im Nucleus caudatus wurden 80,29 $\pm$ 0,84 ml/100g FG und in der periventrikulären weißen Substanz 66,17 $\pm$ 1,03 ml/100g FG gefunde

In Gruppe II (Plasma) war der Wassergehalt der weißen Substanz im Vergleich zu dem der Kontrollen mit 68,51 $\pm$ 1,51 ml/100g FG signifikant ($p < 0,01$; U-Test nach WILCOXON) erhöht. Der Wassergehalt in Hirnrinde und Kerngebieten entsprach dem der Kontrolltiere.

Die Tiere der Gruppe III (Bradykinin) hatten dagegen in allen untersuchten Hirngewebsarealen einen erhöhten Wassergehalt:
In der Rinde wurden 81,63 $\pm$ 0,35 ml/100g FG ($p < 0,02$; t-Test nach STUDENT; Vergleich mit Gruppe I und II), im Nucleus caudatus 81,89 $\pm$ 0,40 ml/100 g FG ($p < 0,002$; U-Test nach WILCOXON; Vergleich mit Gruppe I und II) und in der periventrikulären weißen Substanz 68,01 $\pm$ 1,70 ml/100g FG gefunden. Der Unterschied zum Vergleichswert der Gruppe II ist nicht signifikant, gegenüber der Kontrollgruppe jedoch mit $p < 0,05$ (t-Test nach STUDENT).

Tabelle 3: Cerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt

	Hirnrinde	Nc. caudatus	Hirnmark
Wassergehalt (ml/100 g FG)			
Kontrollen (I)	80,94 ± 0,58 (n=7)	80,29 ± 0,84 (n=6)	66,17 ± 1,04 (n=6)
Plasma (II)	80,95 ± 0,75 (n=12)	80,26 ± 0,70 (n=12)	68,51 ± 1,51 (n=9)*
Bradykinin (III)	81,63 ± 0,35 (n=8) §§	81,89 ± 0,40 (n=8) §	68,01 ± 1,70 (n=8)**
Na^+-Gehalt (mmol/kg TG)			
Kontrollen (I)	279, 9 ± 25,3 (n=6)	261,1 ± 40,5 (n=6)	155,5 ± 22,5 (n=6)
Plasma (II)	299,4 ± 38,5 (n=13)	249,7 ± 23,6 (n=13)	176,2 ± 19,6 (n=13)
Bradykinin (III)	287,5 ± 25,9 (n=8)	308,7 ± 14,4 (n=8) §§	162,5 ± 9,4 (n=8)
K^+-Gehalt (mmol/kg TG)			
Kontrollen (I)	548,4 ± 27,8 (n=6)	503,4 ± 46,1 (n=6)	272,6 ± 21,8 (n=6)
Plasma (II)	540,6 ± 43,7 (n=13)	506,1 ± 19,8 (n=13)	273,5 ± 30,6 (n=13)
Bradykinin (III)	524,7 ± 27,7 (n=8)	494,3 ± 35,4 (n=8)	248,3 ± 24,0 (n=8)

Signifikanzniveaus der Vergleiche zwischen Werten der Versuchsgruppen (II und III) und denen der Kontrollgruppe:

§ $p < 0,002$ §§ $p < 0,02$

* $p < 0,01$ ** $p < 0,05$

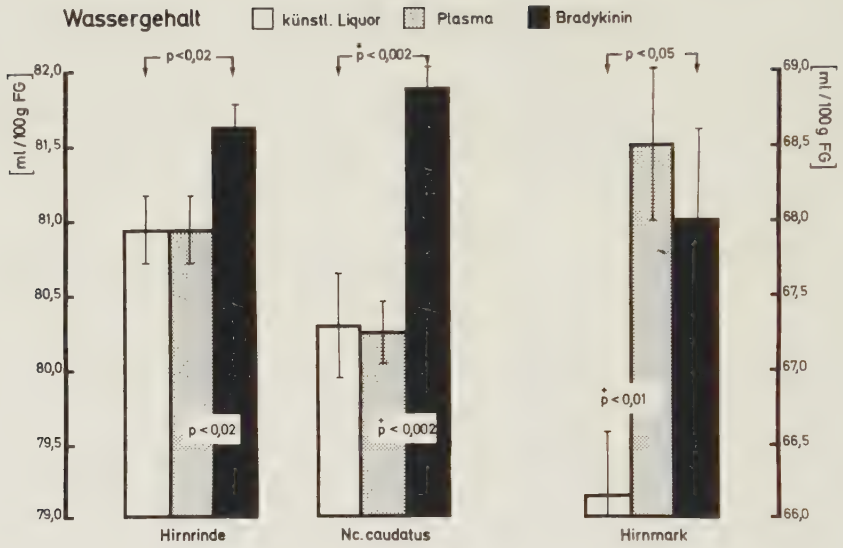

Abbildung 3: Cerebraler Wassergehalt von Versuchstieren nach Ventrikelperfusion mit künstlichem Liquor, homologem Plasma oder Bradykinin.
+ U-Test nach WILCOXON
Die in der Abb. nicht symbolisch gekennzeichneten Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach STUDENT berechnet.

Natrium-Gehalt:

Die Veränderungen des Na^+-Gehaltes in den untersuchten Hirnstrukturen (Tabelle 3 und Abbildung 4) stimmen in etwa mit denen des Wassergehaltes überein: In der weißen Substanz war der Na^+-Gehalt der Gruppe II (Plasma) auf 176,2 $\pm$ 19,6 mmol/kg Trockengewicht und in Gruppe III (Bradykinin) auf 162,5 $\pm$ 9,4 mmol/kg TG gegenüber 155,5 $\pm$ 22,5 mmol/kg TG bei der Kontrollgruppe erhöht. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

Der Na^+-Gehalt des Nucleus caudatus der Gruppe III lag mit 308,7 $\pm$ 14,4 mmol/kg TG erheblich über dem der Kontrollgruppe von 261,1 $\pm$ 40,5 mmol/kg TG ($p < 0,02$;

t-Test nach STUDENT) und über dem der Gruppe nach Plasmaperfusion von 249,7 ± 23,6 mmol/kg TG ($p < 0{,}001$; t-Test nach STUDENT).

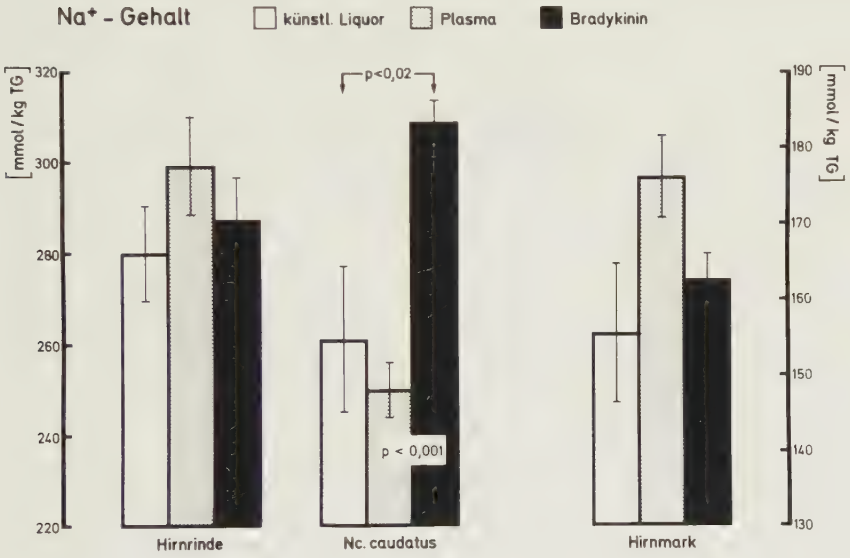

Abbildung 4: Cerebraler Natrium-Gehalt von Versuchstieren nach Ventrikelperfusion mit künstlichem Liquor, homologem Plasma oder Bradykinin. Das Signifikanzniveau wurde mit dem t-Test nach STUDENT berechnet.

Nur in der Hirnrinde waren die Na^+-Gehalte der drei Versuchsgruppen - trotz der Erhöhung des Wassergehaltes in Gruppe III - auf gleichem Niveau (280-300 mmol/kg TG).

Bereits REULEN, et al. (153, 154) haben eine enge Korrelation zwischen dem Na^+- und Wassergehalt im ödematösen Hirngewebe nachgewiesen. In Abbildung 5 ist der Wassergehalt der weißen Substanz gegen den Na^+-Gehalt aufgetragen worden. Die Regressionsfunktion aller Versuche (Gruppe I, II und III; n=22)

$$y=-232{,}6+5{,}91x,\ r=0{,}53$$

ist mit $p < 0{,}01$ signifikant. Legt man nur die Befunde der Gruppe II mit den deutlichsten Veränderungen des Na^+ - und Wassergehaltes im Gehirn zugrunde, ergibt sich eine ebenfalls signifikante ($p < 0{,}05$) Regressionsfunktion mit ähnlichen Determinanten:

$$y = -558{,}0 + 10{,}72x,\ r = 0{,}73$$

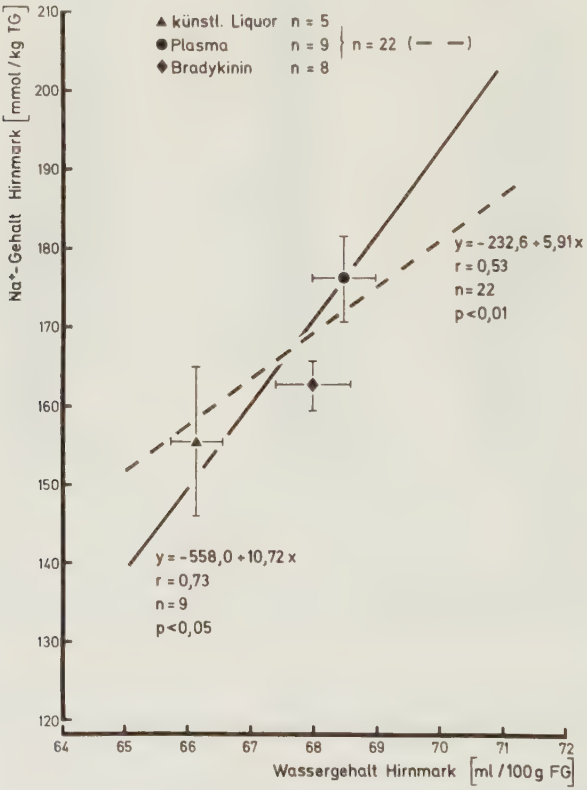

Abbildung 5: Regressionsanalyse von Wasser- und Na^+-Gehalt im Hirnmark von Versuchstieren nach Ventrikelperfusion mit Plasma (—).
In der mit - - - symbolisierten Regressionsfunktion sind die Befunde aus allen Versuchsgruppen zusammengenommen.

Die beim Hirnödem häufig gemachte Beobachtung, daß mit erhöhtem Wassergehalt auch der Na^+-Gehalt ansteigt, wird durch diese Untersuchungen erneut bestätigt. Abbildung 6 zeigt eine entsprechende Regressionsfunktion für die Kernareale.

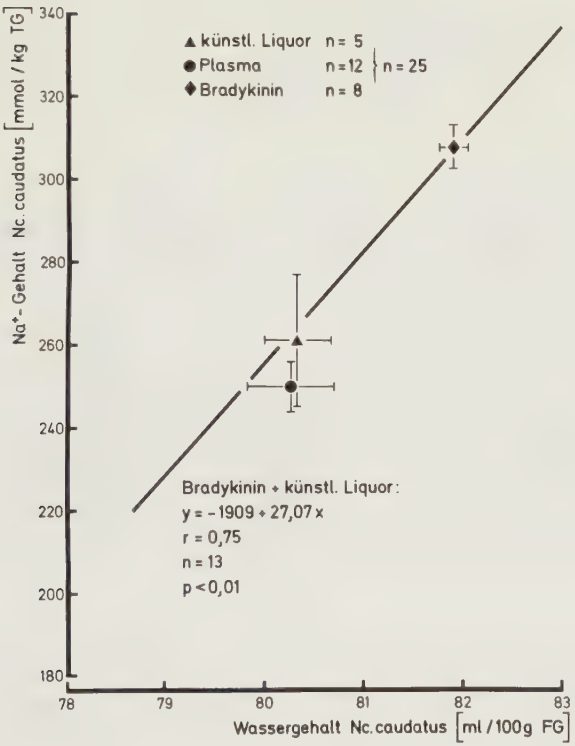

Abbildung 6: Regressionsanalyse von Wasser- und Na^+-Gehalt im Nucleus caudatus. In der Regressionsfunktion (---) sind nur die Befunde der Gruppe I und III berücksichtigt. Mittlerer Na^+- und Wassergehalt im Nc.caudatus der Versuchstiere nach Ventrikelperfusion mit Plasma sind zum Vergleich gegeneinander aufgetragen.

Die Regressionsfunktion der Tiere, die mit künstlichem Liquor perfundiert wurden (Gruppe I und III),

$$y=-1909 + 27{,}07x,\ r=0{,}75$$

zeigt die enge Beziehung beider Parameter ($p<0{,}01$).

Auch in den Kerngebieten besteht eine positive Korrelation zwischen Wasser- und Na^+-Gehalt.
Eine solche Beziehung ließ sich im Hirnrindengewebe, in der Gruppe III (Bradykinin) nicht ermitteln. Der Wassergehalt ist zwar erhöht, der Na^+-Gehalt dagegen nicht.

Kalium-Gehalt:
Der cerebrale K^+-Gehalt ist in diesem Zusammenhang von Interesse, weil ein zytotoxisches Ödem häufig mit einem intrazellulären K^+-Verlust einhergeht (2, 153).

Ein Abnahme des cerebralen K^+-Gehaltes bei gleichzeitiger Zunahme des Wassergehaltes konnte nur in Gruppe III (Bradykinin) in der weißen Substanz beobachtet werden. Der K^+-Gehalt betrug in dieser Gruppe 248,3 $\pm$ 24,0 mmol/kg Trockengewicht gegenüber 272,6 $\pm$ 21,8 mmol/kg TG bei den Kontrollen ($p<0{,}05$; t-Test nach STUDENT, Vergleich mit der Gruppe II und III; Vergleich der Gruppen I und III nicht signifikant).

In Gruppe II (Hirnmark) und in Gruppe III (Nc. caudatus) entsprachen die gefundenen Werte denen der Kontrollgruppe, obgleich der Wassergehalt erhöht war. Immerhin war in Gruppe III (Hirnrinde) ein marginaler K^+-Verlust zu beobachten (s. Abb. 7).

Eine inverse Korrelation zwischen K^+- und Wassergehalt konnte in keinem Areal gefunden werden.

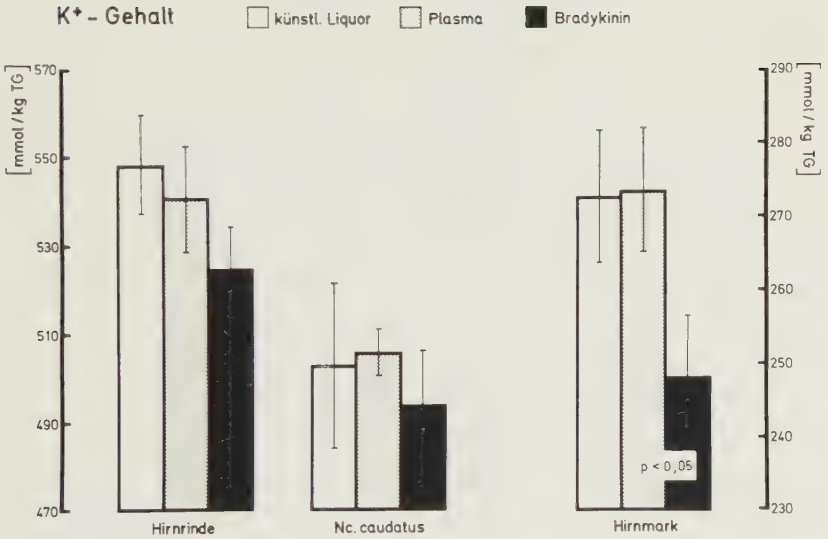

Abbildung 7: Cerebraler Kalium-Gehalt von Versuchstieren nach Ventrikelperfusion mit künstlichem Liquor, homologem Plasma oder Bradykinin. Das angegebene Signifikanzniveau im Hirnmark wurde mit dem t-Test nach STUDENT berechnet.

3. Gewebsmetabolite:

Die labilen Metabolite der Hirnrinde wurden nur in den Gruppen I (Kontrolle) und II (Plasma) bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 8 und 9 dargestellt.

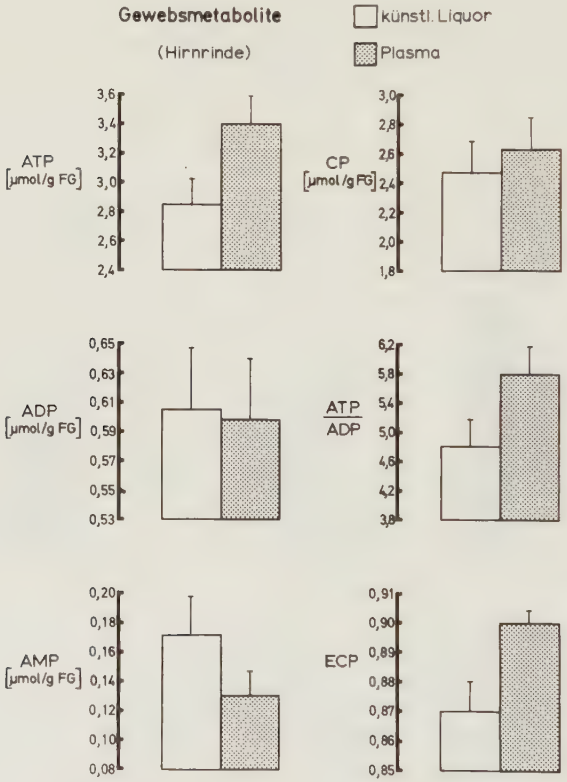

Abbildung 8: Metabolite und Metabolitquotienten der cerebralen Energetik nach Ventrikelperfusion von Versuchstieren mit künstlichem Liquor oder homologem Plasma.

Die Konzentrationen der labilen Phosphatester oder andere Parameter der Energetik, wie z.B. der ATP/ADP-Quotient oder das ECP der beiden Versuchsgruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander. Das gleiche gilt für die Lactatkonzentrationen.

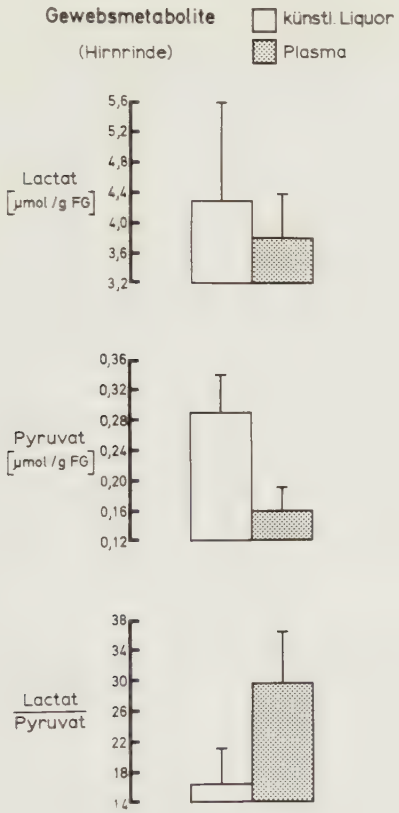

Abbildung 9: Cerebrale Metabolitkonzentrationen und -quotienten der Glykolyse nach Ventrikelperfusion von Versuchstieren mit künstlichem Liquor oder homologem Plasma.

Die Verminderung des Pyruvatgehaltes in Gruppe II von 0,29 ± 0,13 µmol/g Frischgewicht auf 0,16 ± 0,09 µmol/g FG, und der Anstieg des Lactat/Pyruvat-Quotienten von 16,4 ± 10,4 auf 29,5 ± 20,5 sind grenzwertig signifikant.

4. Veränderungen des Perfusates während ventriculo-cisternaler Perfusion:

14-C-Inulin-Aktivität:

Die Perfusionslösungen enthielten 14-C-markiertes Inulin als Volumenindikator. Dadurch konnte die endogene Liquorproduktion quantitativ ermittelt werden. Ebenso war es möglich, Konzentrationsänderungen verschiedener im Perfusat gelöster Substanzen während der Ventrikelpassage von Volumenänderungen des Liquors unabhängig zu erfassen.

Am Ende der Vorperfusion betrug bei allen Gruppen die Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat ca. 90 % der Aktivität des in das Ventrikelsystem einströmenden Perfusates.
Die Änderungen der Inulin-Konzentrationen im Effluat unterschieden sich jedoch dann in Abhängigkeit von der verwendeten Perfusionslösung (Abb. 10a):
In Gruppe I (Kontrollen) stieg die 14-C-Inulin-Aktivität von 92,3% (30 Min.) auf 96,0% (180 Min.), in Gruppe II (Plasma) von 91,4% (30 Min.) auf 96,2% (180 Min.). Dagegen fanden wir in Gruppe III (Bradykinin) einen stetigen Abfall von 98,5% (30 Min.) auf 93,3% (180 Min).

Der Verlauf der 14-C-Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat nach Ventrikelperfusion mit Plasma kann durch die Regressionsfunktion

$$y = 90{,}79 + 0{,}036\ x,\ r = 0{,}42$$

beschrieben werden. Der Anstieg der 14-C-Inulin-Aktivität im Perfusionsverlauf ist hochsignifikant ($p < 0{,}001$), während nach Ventrikelperfusion mit Bradykinin die 14-C-Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat im Versuchsverlauf signifikant abnimmt, wie aus der Regressionsfunktion

$$y = 97{,}38 - 0{,}029\ x,\ r = 0{,}35,\ p < 0{,}05$$

hervorgeht (Abb. 10a).

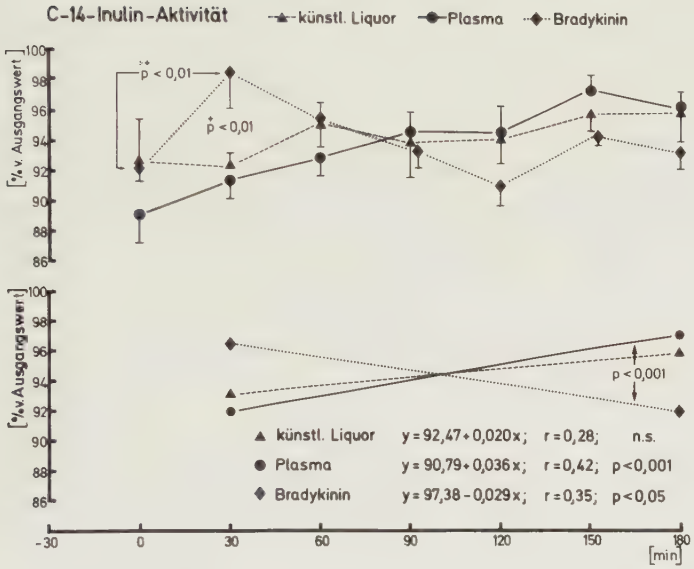

Abbildung 10a: Verlauf der 14-C-Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat, in % der Aktivität des Perfusates vor Ventrikelpassage.
Im unteren Teil der Abbildung sind die Regressionsfunktionen gezeigt, welche aus dem Aktivitätsverlauf im Effluat berechnet wurden.
$^{+}$ U-Test nach WILCOXON; $^{++}$ WILCOXON-Test

Die beiden Regressionsfunktionen der Gruppen II und III unterscheiden sich hochsignifikant voneinander ($p < 0{,}001$), wie aus dem Vergleich der Regressionskoeffizienten (Steigung der Regressionsgeraden) hervorgeht.
Ein signifikanter Unterschied der 14-C-Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat wurde 30 Minuten nach Beginn der Hauptperfusion gefunden:
In Gruppe III beträgt die Inulin-Aktivität 98% der Ausgangsaktivität, in Gruppe I und II hingegen nur 90-92% ($p < 0{,}01$, U-Test nach WILCOXON).

Der Vergleich der Inulin-Aktivität am Ende der Vorperfusion mit der Aktivität 30 Minuten nach Beginn der Perfusion mit Bradykinin ($p < 0{,}01$, WILCOXON-Test) macht deutlich, daß die Befunde nicht durch unterschiedliche Ausgangskonzentrationen in der Kontrollphase erklärt werden können.

Liquorsekretionsrate:

Nach PAPPENHEIMER, et al.(79, 137) kann die Liquorproduktion mit der ventriculo-cisternalen Perfusion im steady state aus dem Perfusatfluß und dem Konzentrationsprofil des Indikators (z.B. 14-C-Inulin) ermittelt werden.

Ein steady state wird nach ca. 60-minütiger Perfusion erreicht (47). Die Liquorproduktionsrate errechnet sich dann nach (48):

$$K_f = K_x \cdot \frac{C_{in} - C_{out}}{C_{out}}$$

K_f = Liquorproduktionsrate (µl/min)

K_x = Perfusionsgeschwindigkeit (ml/min)

C_{in} = Konzentration des Extrazellulärraummarkers in der Perfusionslösung, (Inflow)

C_{out} = Konzentration des Markers im Effluat (Outflow)

Die von verschiedenen Autoren angegebenen Normalwerte von Hunden liegen zwischen 47 und 66 µl/min (18, 48).

Da nach 30-minütiger Vor- und 30-minütiger Hauptperfusion (i.e. 60 Minuten Perfusionsdauer) ein steady state erreicht wurde, konnte die Liquorproduktion bei allen drei Versuchsgruppen im Zeitraum zwischen 30 und 180 Minuten nach Beginn der Hauptperfusion errechnet werden.

In Gruppe I (Kontrolle) fällt die endogene Liquorsekretion von 84,1 µl/min (30 Min.) auf 43,1 µl/min nach 180 Min. (s.Abb.10b). In Gruppe II findet auch eine Abnahme von 95,8 µl/min (30 Min.) auf 28,6 µl/min nach 180 Min. statt. Die Ab-

nahme der Liquorsekretion im Verlauf der Perfusion der Gruppe II ist durch

$$y = 106{,}6 - 0{,}465\ x,\ r = 0{,}47;\ p < 0{,}01$$

statistisch gesichert.

Gruppe III unterscheidet sich von den beiden anderen Gruppen durch einen gegensinnigen Verlauf der Liquorsekretion. Nach 30-minütiger Perfusion mit Bradykinin war die Liquorproduktion 18,7 µl/min und stieg nach 120 Min. auf 99,5 µl/min an. Diese hohe Sekretionsrate blieb im weiteren Verlauf weitgehend erhalten (s.Abb. 10b).

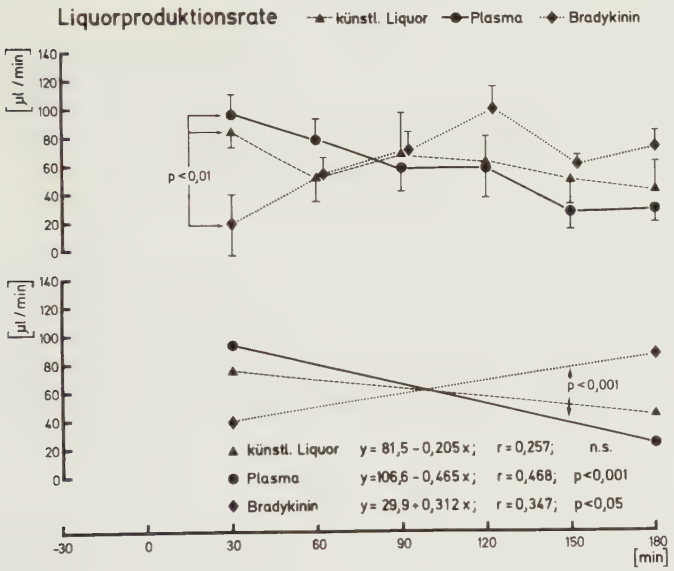

Abbildung 10b: Liquorproduktionsrate von Versuchstieren nach Ventrikelperfusion mit künstlichem Liquor, homologem Plasma und Bradykinin (oben). Die Veränderungen der Liquorsekretionsrate im Versuchsverlauf sind im unteren Teil der Abbildung als Regressionsfunktionen wiedergegeben.

Die Zunahme der Liquorproduktion in Gruppe III kann ebenfalls statistisch mit einer Regressionsfunktion

$$y = 29{,}9 + 0{,}321\ x,\ r = 0{,}347;\ p < 0{,}05$$

gesichert werden. Die Steigungen der Regressionsgeraden der Gruppen II und III unterscheiden sich hochsignifikant ($p < 0{,}001$) voneinander.

Die Liquorproduktion der Tiere der Gruppe III (Bradykinin) unterscheidet sich 30 Min. nach Perfusionsbeginn mit Bradykinin signifikant von den Werten der Gruppe I und II ($p < 0{,}01$; U-Test nach WILCOXON).
Bradykinin führt zunächst zu einer Senkung der Liquorproduktionsrate um ca. 75%.

pH-Wert:

Das pH der Perfusionslösungen wurde in allen Versuchen vor Perfusionsbeginn auf 7,35 eingestellt. Das alkalische pH des Plasmaperfusates vor Perfusion (pH 7,50 $\pm$ 0,09, s.Abb. 11), ist auf den Verlust von CO_2 durch offene Lagerung zurückzuführen.

Nach Ventrikelpassage fiel das pH des Plasmaperfusates auf 7,35. Wie die Abbildung 11 zeigt, sind sowohl die Schwankungen der Einzelwerte zu den verschiedenen Perfusionszeitpunkten als auch die Veränderungen im gesamten Perfusionsverlauf bemerkenswert gering. Die Normalisierung des pH während der Perfusion mit Plasma läßt sich durch Äquilibrierung des Gewebe-CO_2 mit dem Perfusat erklären.

Der künstliche Liquor dagegen war nach Ventrikelpassage saurer. Das pH lag bei 7,00. Diese Beobachtung kann durch die Diffusion von CO_2 aus dem periventrikulären Hirngewebe in das Perfusat und dessen geringe Pufferkapazität erklärt werden.

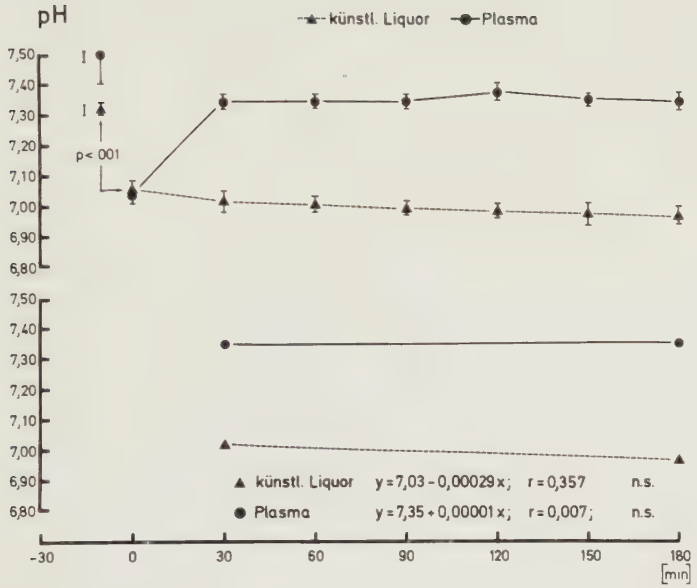

Abbildung 11: Veränderungen des pH im cisternalen Effluat nach Ventrikelperfusion mit künstlichem Liquor, homologem Plasma und Bradykinin. Zwischen 30 und 180 Min. nach Perfusionsbeginn ändert sich das pH nicht, wie aus den im unteren Teil der Abb. gezeigten Regressionsfunktionen hervorgeht.

Osmolarität:

Die Osmolarität des künstlichen Liquors wurde vor Versuchsbeginn, den physiologischen Bedingungen entsprechend (54), auf 306 mosmol/l eingestellt. Unter physiologischen Bedingungen ist die Omolarität des Liquors offensichtlich geringfügig höher als die des Plasmas.

Abbildung 12 zeigt die Osmolarität im cisternalen Effluat unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Daraus geht hervor, daß keine Veränderungen während der Ventrikelperfusion erfolgt sind.

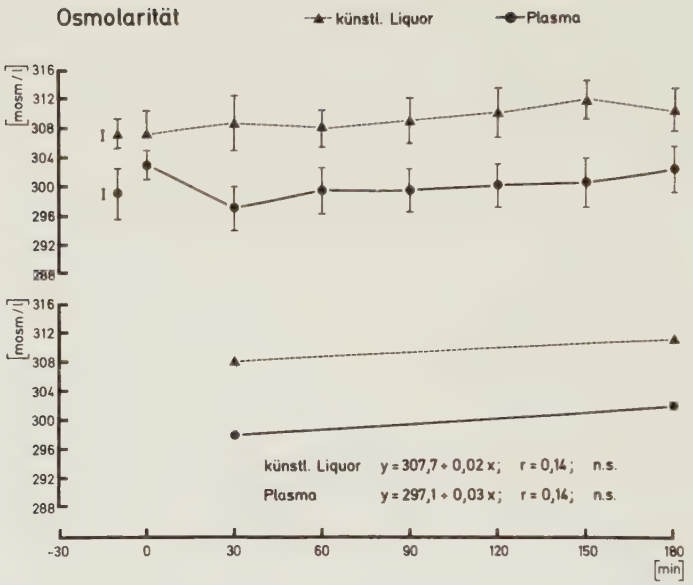

Abbildung 12: Veränderungen der Osmolarität im cisternalen Effluat nach Ventrikelperfusion mit unterschiedlichen Perfusionslösungen (künstl. Liquor, homologes Plasma).
Die im unteren Teil der Abb. dargestellten Regressionsgeraden machen deutlich, daß sich im Perfusionsverlauf die Osmolarität des cisternalen Effluates nicht wesentlich änderte.

Glukose:

Die Glukosekonzentration des künstlichen Liquors war mit 3,0-3,3 mmol/l (55-60 mg%) in dem für Liquor cerebrospinalis physiologischen Konzentrationsbereich (54).

Wie aus Abbildung 13 hervorgeht, bewegen sich die Glukosekonzentrationen im cisternalen Effluat der Gruppe I und III in diesem Bereich. Aus dem unteren Teil der Abbildung wird ersichtlich, daß es in diesen Gruppen nicht zur Aufnahme von Glukose aus der Perfusionslösung ins Hirnparenchym gekommen ist.

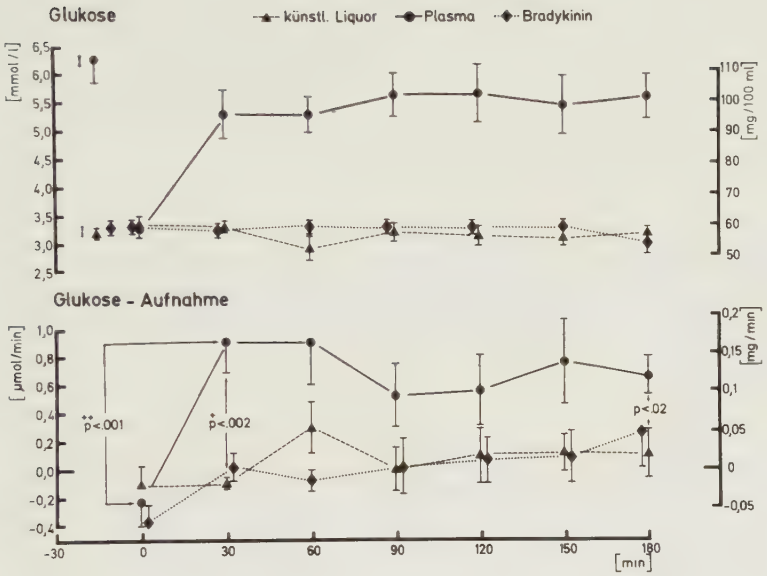

Abbildung 13: Glukosekonzentration im cisternalen Effluat unter verschiedenen Perfusionsbedingungen.

Die cerebrale Glukoseaufnahme während der Perfusion wurde aus dem Konzentrationsunterschied zwischen ein- und ausströmendem Perfusat und der Perfusionsrate errechnet (unterer Teil der Abbildung). Nur bei Ventrikelperfusion mit Plasma kam es zur cerebralen Glukoseaufnahme.

$^{+}$ U-Test nach WILCOXON; $^{++}$ WILCOXON-Test

Das nicht gekennzeichnete Signifikanzniveau wurde mit dem t-Test nach STUDENT ermittelt.

Während der Ventrikelperfusion mit Plasma kam es zur Aufnahme von Glukose aus dem Perfusat in das periventrikuläre Parenchym (Abb. 13, unten). Die Glukosekonzentration war vor Ventrikelpassage 6,2 mmol/l (110 mg%) und fiel nach Perfusion auf 5,5 mmol/l (100 mg%). Unter Berücksichtigung der Perfusionsrate errechnet sich eine Glukoseaufnahme von 0,6-0,7 µmol/min (0,11-0,13 mg/min).

Nach 30 ($p < 0{,}002$, U-Test nach WILCOXON) und 180 Minuten ($p < 0{,}02$, t-Test nach STUDENT) Perfusionsdauer war in Gruppe II (Plasma) die Glukoseaufnahme gegenüber den Kontrollen signifikant größer. Auch im Vergleich zur Vorperfusion mit künstlichem Liquor war die Glukoseaufnahme 30 Min. nach Perfusionsbeginn mit Plasma signifikant erhöht ($p < 0{,}001$, WILCOXON-Test).

Lactat:

Die Lactatkonzentration im cisternalen Effluat (Abb. 14) in Gruppe I (künstl. Liquor) war 0,4-0,7 mmol/l, woraus eine Lactat-Abgabe des Gehirns von 0,3-0,5 µmol/min errechnet werden kann.

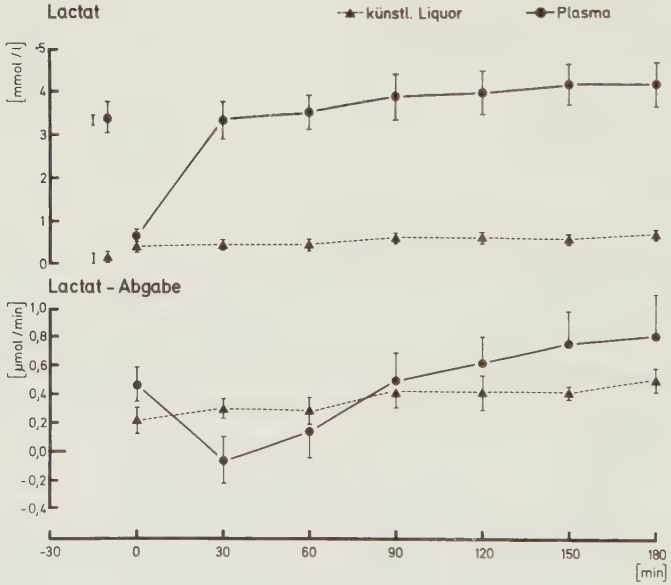

Abbildung 14: Lactatkonzentration im cisternalen Effluat und die daraus errechnete Lactatabgabe des Gehirns (unterer Teil der Abbildung) bei Ventrikelperfusion mit künstl. Liquor und homologem Plasma.

Während der Plasmaperfusion (Gruppe II) stieg die Lactatabgabe von 0,0 µmol/min nach 30 Min. auf 0,8 µmol/min nach 180 Min. an. Die Zunahme der Lactatproduktion ist hochsignifikant wie aus der Regressionsfunktion

$$y = -0{,}1642 + 0{,}006\ x,\ r = 0{,}43;\ p < 0{,}01$$

hervorgeht.

Pyruvat:

Wie Abb. 15 deutlich macht, wurde bei Kontrolltieren und bei Perfusionen mit Plasma auch eine Abgabe von Pyruvat an das Perfusat beobachtet. Bei Perfusion mit Plasma war die Pyruvat-Abgabe jedoch nicht größer als bei Perfusion mit künstlichem Liquor.

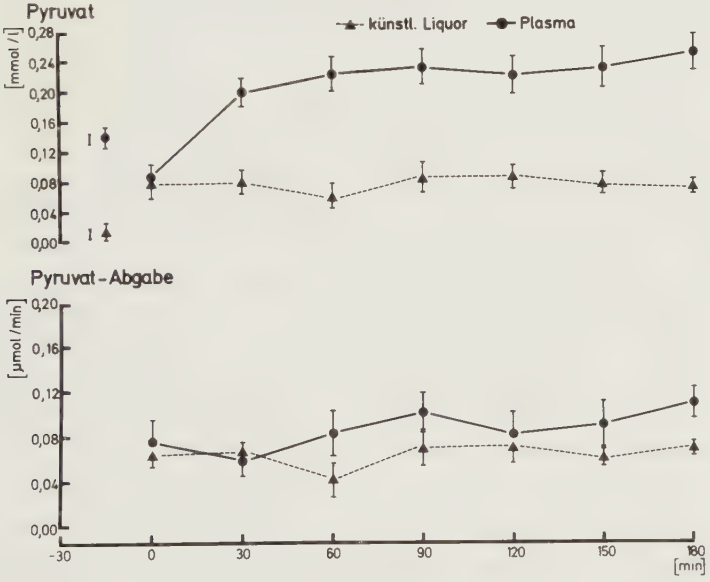

Abbildung 15: Pyruvatkonzentration im cisternalen Perfusat und die daraus errechnete Pyruvat-Abgabe des Gehirns (unterer Teil der Abb.) bei Ventrikelperfusion mit künstl. Liquor und homologem Plasma.

LDH-Aktivität:

Die Aktivität der Lactatdehydrogenase wurde im Perfusat bestimmt, um Parenchymschädigungen des Gehirns durch Austritt dieses im Zytosol lokalisierten Enzyms an das Perfusat zu erfassen.

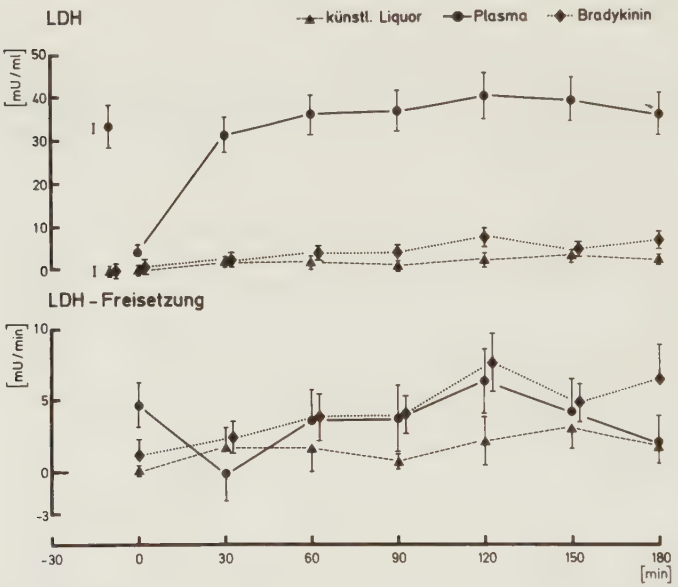

Abbildung 16: LDH-Aktivität im cisternalen Effluat unter den verschiedenen Perfusionsbedingungen und die daraus errechnete cerebrale Freisetzung des Enzyms in das Perfusat (unterer Teil der Abb.).

Wie Abb. 16 zeigt, kam es in allen Versuchsgruppen während der Perfusion zu einer Freisetzung des Enzyms von 1-7 mU/min. Die Verläufe der LDH-Freisetzung im Perfusat der verschiedenen Gruppen unterscheiden sich jedoch nicht wesentlich voneinander.

Glutamat:

Die Aminosäure Glutamat ist im Gehirn in hohen Konzentrationen vorhanden, jedoch streng intrazellulär lokalisiert. Extrazelluläre Konzentrationen von 0,2-1,0 mmol/l führen zu Zellschwellungen (193), 8 mmol/l zu Zellnekrosen (192). Mit diesen Eigenschaften ist die Aminosäure als neurotoxische Substanz für die Entwicklung sekundärer Hirnschäden nach einem primären Insult qualifiziert. In diesen Untersuchungen wurde der Frage nachgegangen, ob die Ventrikelperfusion mit Plasma oder Bradykinin zur Freisetzung von Glutamat führt. Dies wäre ein weiteres Indiz für eine Parenchymschädigung. Abb. 17 zeigt die Glutamatkonzentration im cisternalen Effluat und die errechnete Clearance.

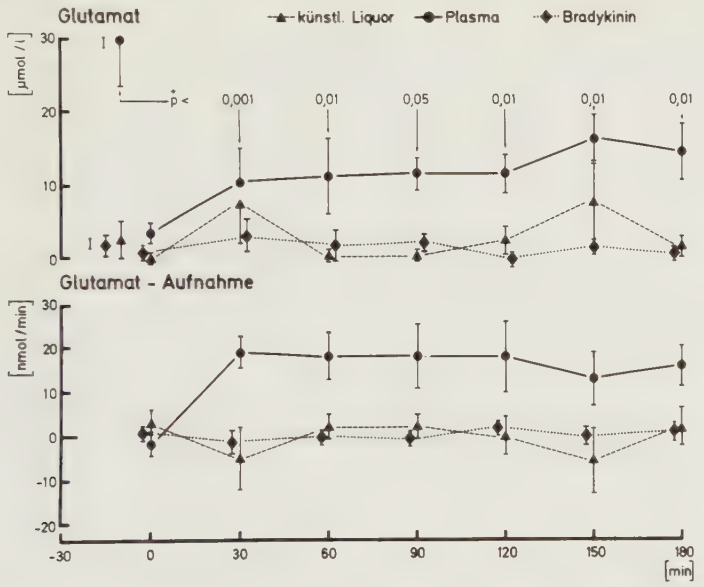

Abbildung 17: Glutamatkonzentration im cisternalen Effluat, zusammen mit der daraus errechneten cerebralen Glutamat-Clearance (unterer Teil der Abb.).

Die Versuche Nr. 18 und Nr. 20 der Gruppe II (Plasma) sind nicht berücksichtigt.

+ WILCOXON-Test

Im Perfusat der Gruppen I und III nach Ventrikelpassage wurde hin und wieder Glutamat gefunden, was vermutlich auf minimale Blutbeimengungen zurückzuführen ist.

Vor Ventrikelpassage war die Glutamatkonzentration im Plasmaperfusat 30,0 $\pm$ 20 µmol/l. Während der Perfusion fiel die Glutamatkonzentration in 11 von 13 Versuchen um 13 µmol/l ab ($p < 0{,}05$-$p < 0{,}001$; WILCOXON-Test) (s. Abb. 17). Also kam es bei 11 Versuchen der Gruppe II zu einer Clearance der Aminosäure von 13-19 nmol/min.

Eine Ausnahme machen zwei Versuche, in welchen eine erhebliche Glutamatliberierung aus dem periventrikulären Hirngewebe in das Perfusat festgestellt wurde (Abb. 18).

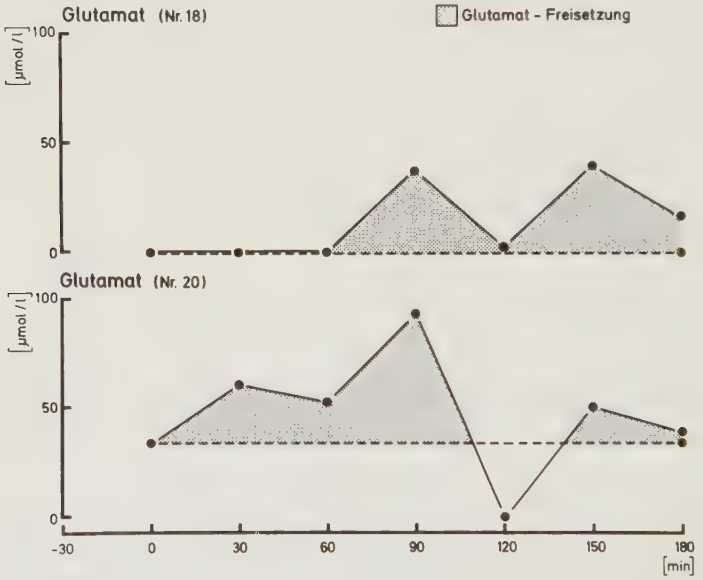

Abbildung 18: Glutamatkonzentration des cisternalen Effluats von Einzelversuchen, bei welchen eine cerebrale Glutamatfreisetzung in das Perfusat aufgetreten ist.

- - - symbolisiert die Glutamatkonzentration im einströmenden Perfusat (Plasma).

In diesen Versuchen wurde der höchste Wassergehalt in der periventrikulären weißen Substanz gefunden.

Natrium-Konzentration:

In Gruppe I und III wurde übereinstimmend eine Aufnahme von Na^+ aus dem Perfusat in das Gewebe von ca. 3,0 µmol/min (s.Abb. 19, unten) beobachtet, und zwar unabhängig von der Na^+-Konzentration des in das Ventrikelsystem einströmenden Perfusates.

Die höhere Na^+-Konzentration im künstlichen Liquor der Kontrollgruppe ist durch die Beimengung von NaOH zur Perfusionslösung zu erklären, die zur Anpassung des pH erforderlich war.

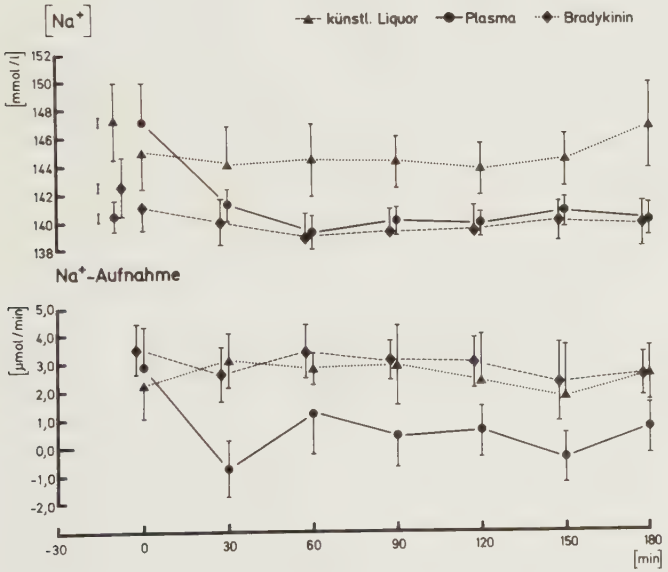

Abbildung 19: Na^+-Konzentration im cisternalen Effluat unter verschiedenen Perfusionsbedingungen und die daraus berechnete Na^+-Aufnahme aus dem Perfusat in das Gewebe (unten).

Die Na^+-Konzentration der Plasmaperfusate war ca.140 mmol/l. Während der Ventrikelpassage kam es zu keinen nennenswerten Veränderungen der Na^+-Konzentration, d.h. es fand keine Na^+-Aufnahme ins Hirnparenchym im Verlauf der Perfusion statt.

Kalium-Konzentration:

Die K^+-Konzentration im künstlichen Liquor war 3,0 mmol/l; sie entsprach damit physiologischen Bedingungen (21). Die normale K^+-Konzentration im Liquor ist deutlich niedriger als die normale K^+-Konzentration im Plasma.

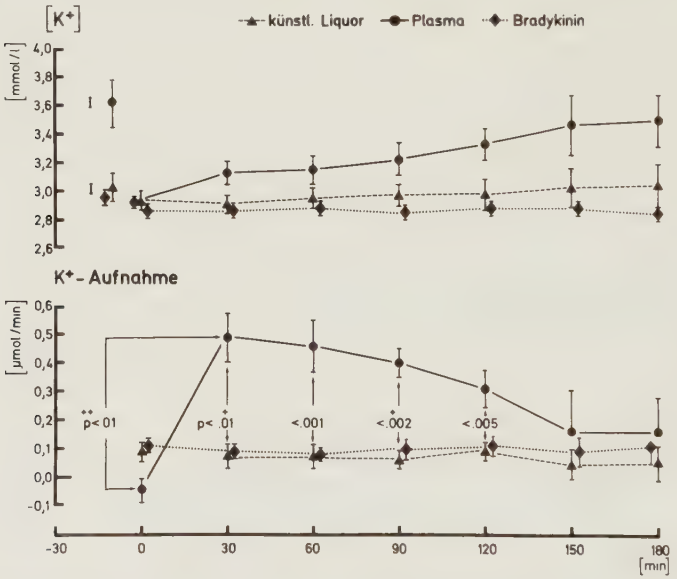

Abbildung 20: K^+-Konzentration im cisternalen Effluat (oben) und die daraus errechnete K^+-Aufnahme aus der Perfusionslösung in das periventrikuläre Hirngewebe (unten).

$^+$ U-Test nach WILCOXON; $^{++}$ WILCOXON-Test

Die nicht speziell gekennzeichneten Signifikanzen wurden mit dem t-Test nach STUDENT berechnet.

Experimentelle Untersuchungen (38, 55) haben gezeigt, daß im Gehirn die K^+-Konzentration im Extrazellulärraum wie im Liquor sehr konstant gehalten wird. Die Homöostase der K^+-Konzentration im Liquor wird durch die Befunde in den Gruppen I und III besonders deutlich. Die Konzentrationen im Effluat varrieren zwischen 2,9-3,0 mmol/l. Die K^+-Aufnahme in das Gewebe ist zu vernachlässigen (Abb. 20). Die Ventrikelperfusion mit Plasma macht jedoch eine Ausnahme. Im cisternalen Effluat stieg die K^+-Konzentration von 3,1 $\pm$ 0,3 mmol/l (30 Min.) auf 3,5 $\pm$ 0,6 mmol/l nach 180 Minuten.

Bei einer K^+-Konzentration von 3,6 mmol/l im einströmenden Perfusat und einer Perfusionsrate von 1 ml/min errechnet sich eine K^+-Aufnahme in das periventrikuläre Gewebe von 0,5 µmol/min. Gegen Ende der Perfusion fiel die Aufnahme auf 0,1 µmol/min.

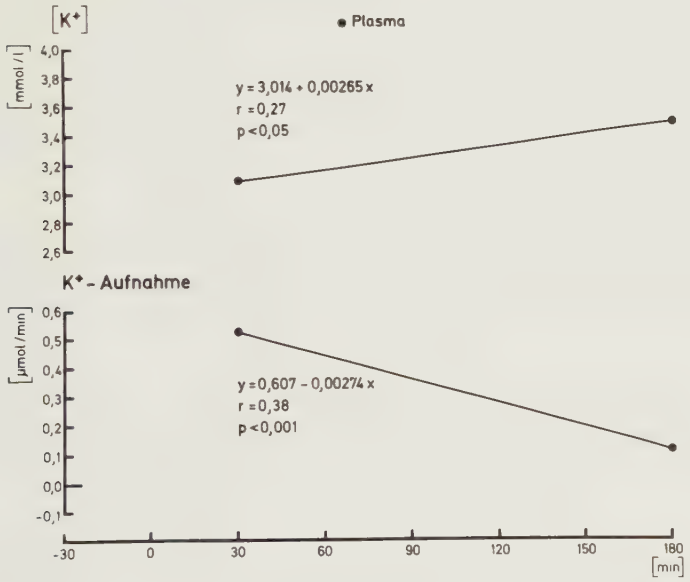

Abbildung 21: Veränderung der K^+-Konzentration im cisternalen Effluat (oben) und die daraus errechnete cerebrale K^+-Aufnahme (unten) im Verlauf der Ventrikelperfusion mit Plasma, dargestellt als Regressionsfunktionen.

Zwischen 30 und 180 Min. war die Aufnahme von K^+-Ionen in das Gehirn bei Perfusion mit homologem Plasma signifikant größer als bei Kontrolltieren ($p < 0{,}005$ - $p < 0{,}01$). Davon abgesehen stieg die K^+-Aufnahme nach Beginn der Ventrikelperfusion mit Plasma im Vergleich zur Vorperfusion mit künstl. Liquor deutlich an ($p < 0{,}01$, WILCOXON-Test).

Mit den in Abb.21 wiedergegebenen Regressionsanalysen wird der Anstieg der K^+-Konzentration im cisternalen Effluat im Verlauf der Perfusion mit homologem Plasma und die Abnahme der K^+-Clearance durch das periventrikuläre Hirngewebe ($p < 0{,}001$) statistisch abgesichert.

Kininogene:

Abbildung 22 und 23 geben die Verläufe der Kininogen-Konzentration im Effluat der Gruppe II (Plasma) nach Ventrikelpassage wieder.
Eine Abnahme der Kininogen-Konzentration im Effluat gilt als Hinweis, daß Kininogen verbraucht bzw. Kinine während der Perfusion liberiert wurden. Diese Interpretation verlangt jedoch als Voraussetzung, daß eine Verdünnung des Perfusates durch neugebildeten Liquor ausgeschlossen werden kann.

Eine Verdünnung des Perfusates durch endogen gebildeten Liquor wurde durch Bestimmung der 14-C-Inulin-Aktivität im Perfusat vor und nach Ventrikelpassage erfaßt. Die Korrektur erfolgte nach folgender Gleichung:

$$\text{korr.Kininogen-Konz. (ng/ml)} = \frac{\text{Kininogen-Konz. (ng/ml)}}{\text{14-C-Inulin-Akt. (\% v. Ausgangswert)}} \times 100$$

Die Kininogenkonzentration im Plasmaperfusat (Gruppe II) betrug im Mittel 2687 ng/ml. Der Konzentrationsbereich lag zwischen 1487 und 4244 ng/ml.
Die mit 14-C-Inulin korrigierte Effluatkonzentration lag bei 2500 ng/ml. Das entspricht einer Abnahme von ca. 5% (s.Abb. 22). Die Kininbildung betrug im Mittel 200 ng/min.

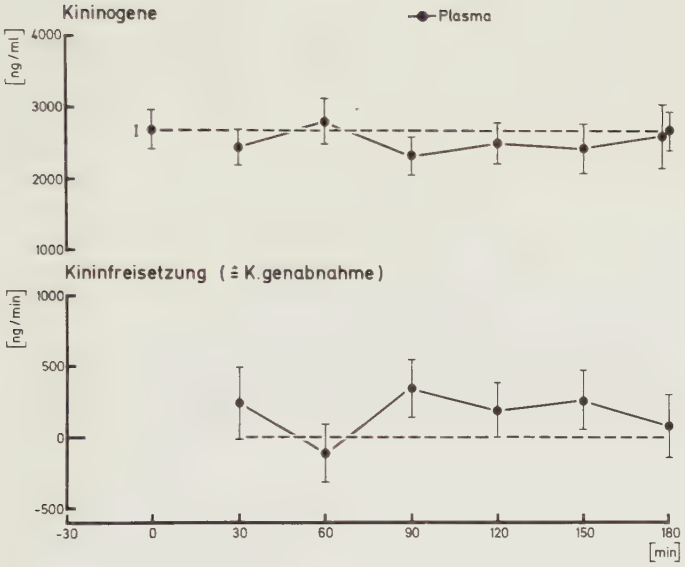

Abbildung 22: Verlauf der Kininogenkonzentration im cisternalen Effluat (oben) sowie der Kininogenabnahme (unten) bei Ventrikelperfusion mit Plasma unter Berücksichtigung der 14-C-Inulin-Aktivität.
- - - gibt die mittlere Kininogenkonzentration des einströmenden Perfusates wieder.

In Abbildung 23 sind die Einzelverläufe der Kininogenkonzentration im cisternalen Effluat der Gruppe II dargestellt. Abb. 23a zeigt die Kininogenkonzentrationen in ng/ml; in Abb. 23b sind die relativen Konzentrationen (% vom Ausgangswert) wiedergegeben.

Bei 5 von 9 Versuchen der Gruppe II (Abb. 23a und b, jeweils oben) nahm die Kininogenkonzentration im Effluat während der Perfusion ab. In diesen Versuchen kann eine Kininbildung angenommen werden. Bei den übrigen vier Versuchen dieser Gruppe (Abb. 23.a und b, jeweils unten) war dagegen keine Konzentrationsabnahme, sondern eher eine Konzentrationszunahme während der Perfusion zu beobachten.

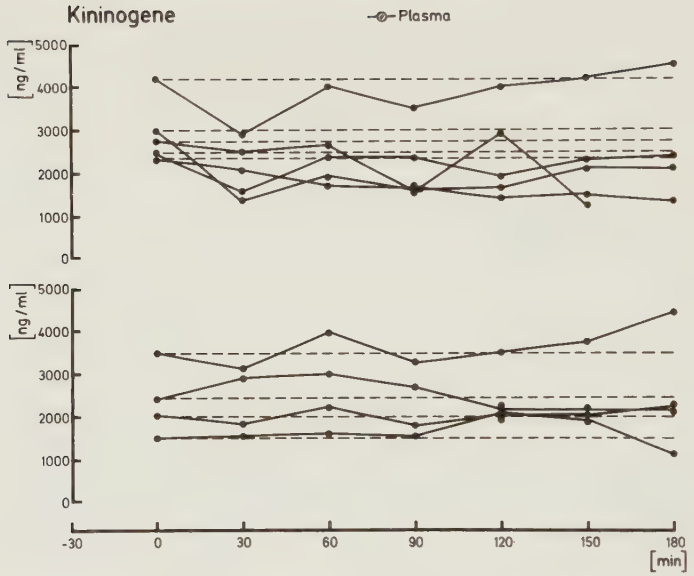

Abbildung 23a: Darstellung der Einzelverläufe der Kininogenkonzentration im cisternalen Effluat bei Ventrikelperfusion mit homologem Plasma. Die Kininogenkonzentration des Perfusates vor Ventrikelpassage ist zum Vergleich (-----) wiedergegeben.

Im oberen Teil der Abbildung sind die Versuche mit Kininogenverbrauch, im unteren Teil ohne Kininogenverbrauch während Ventrikelpassage gezeigt.

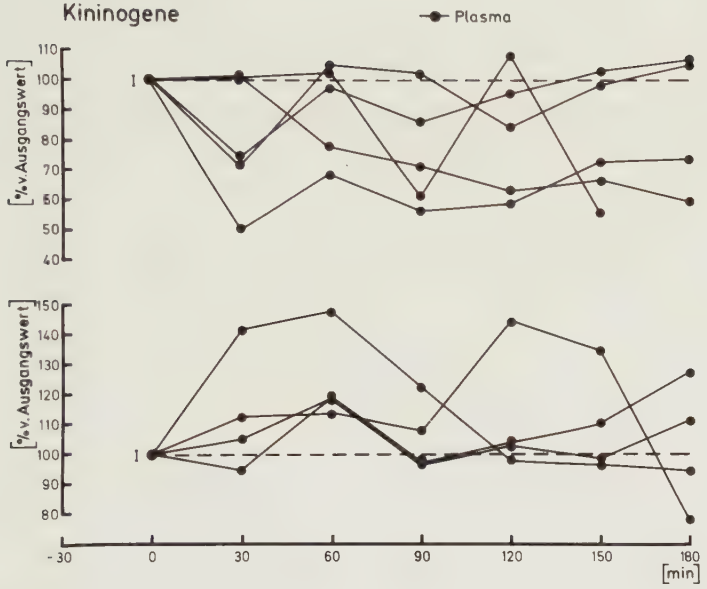

Abbildung 23b: Darstellung der Kininogen-Konzentrationsprofile im cisternalen Effluat in % der in das Ventrikelsystem einströmenden Konzentration (Plasma).
Der obere Teil der Abbildung zeigt die Versuche, bei welchen Kininogene während der Perfusion verbraucht wurden.

Kinine:

Für die Ventrikelperfusion der Gruppe III (Bradykinin) wurden 10.000 ng/ml Bradykinin in künstlichem Liquor gelöst. Eigene Bestimmunger der Bradykinin-Konzentration gegen einen Bradykinin-Standard mit dem Bioassay am Rattenuterus ergaben jedoch Konzentrationen von nur 1234-4165 ng/ml Bradykinin, im Mittel 2476 $\pm$ 1020 ng/ml, d.h. ca. 25% der Nominalkonzentration. Auch bei diesen Versuchen wurden die im Effluat ermittelten Kinin-Konzentrationen mit der 14-C-Inulin-Aktivität korrigiert.

Wie aus Abbildung 24a ersichtlich, erschienen im cisternalen Effluat Bradykinin-Konzentrationen von nur 700-1000 ng/ml (= 20-40% der in die Ventrikel einfließenden Konzentration). Das bedeutet, daß pro Minute 1500-1900 ng Bradykinin in das Hirnparenchym aufgenommen oder während der Ventrikelpassage abgebaut wurden.

Der Unterschied zwischen den Bradykinin-Konzentrationen vor und nach Ventrikelpassage ist mit $p < 0{,}01$ bis $p < 0{,}001$ hochsignifikant (t-Test für gepaarte Stichproben bzw. WILCOXON-Test).

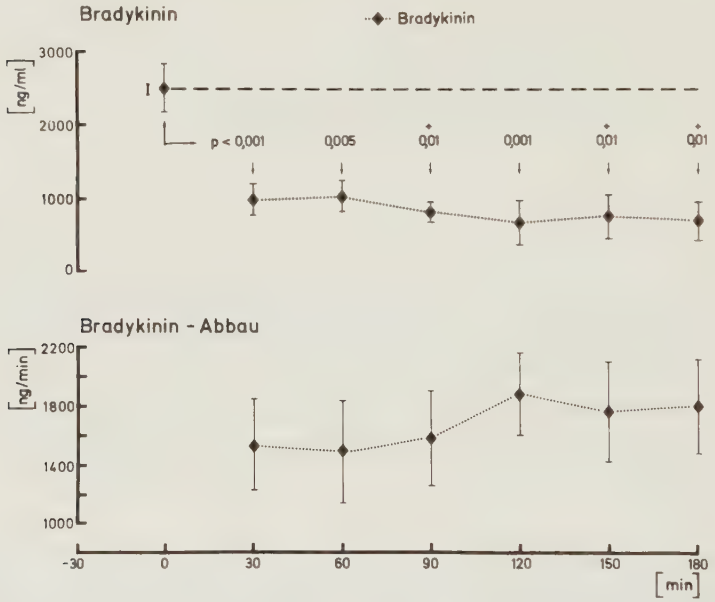

Abbildung 24a: Bradykinin-Konzentration im cisternalen Effluat (oben) und die daraus errechnete Bradykinin-Clearance durch das Gehirn (unten) mit zunehmender Perfusionsdauer.

Die Bradykinin-Konzentration im einströmenden Perfusat ist als ----- zum Vergleich dargestellt.

\+ WILCOXON-Test

Die nicht symbolisch gekennzeichneten Signifikanzen wurden mit dem t-Test für gepaarte Stichproben errechnet.

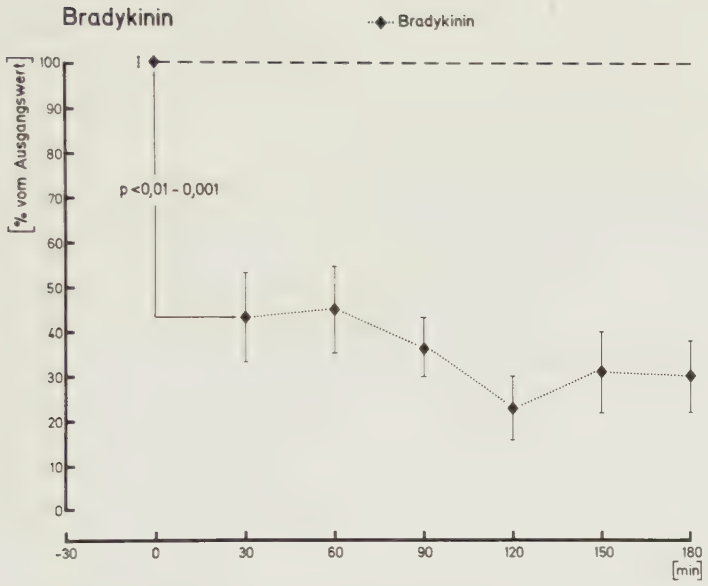

Abbildung 24b: Verlauf der Bradykinin-Konzentration im cisternalen Effluat; dargestellt in Prozent der in das Ventrikelsystem einströmenden Konzentration.
Die in 24a und b gezeigten Konzentrationsangaben wurden unter Berücksichtigung der 14-C-Inulin-Aktivität korrigiert.

5. Blut-Hirn-Schrankenfunktion:

Die Tiere erhielten zwei Stunden vor Versuchsende 2 ml/kg einer 2%igen Evansblue-Lösung i.v. zur makroskopischen Untersuchung der Blut-Hirn-Schrankenfunktion, um grobe Defekte der Schranke durch Anfärbung des Parenchyms zu erkennen.

Extravasationen konnten jedoch bei keinem Tier der drei Versuchsgruppen festgestellt werden. Lediglich um die beiden Stichkanäle der Ventrikel-Punktionskanülen wurden diskrete Anfärbungen mit Evans blue gefunden.

D. DISKUSSION

1. Bemerkungen zu Material und Methoden:

a) Die ventriculo-cisternale Perfusion:

Der Liquor cerebrospinalis der Gehirnventrikel steht über die Foramina Luschkae und das Foramen Magendie mit dem Liquor der basalen Cisternen und dem des Subarachnoidalraumes in freier Verbindung (51). Außerdem besteht ein Austausch zwischen dem Ventrikel- und subarachnoidalen Liquor und dem Extrazellulärraum des Gehirns (39, 59, 60, 124, 125).
FENSTERMACHER und PATLAK (61) konnten zeigen, daß der transependymale Diffusionskoeffizient für Saccharose $\geq 5 \times 10^{-4}$ cm/s beträgt, somit das ventrikuläre Ependym für niedermolekulare Substanzen keine Diffusionsbarriere darstellt.

Die ventriculo-cisternale Perfusion ist daher eine Methode der cerebralen Applikation von Substanzen, welche bei systemischer Zufuhr nicht in das Gehirn aufgenommen werden, weil sie die Blut-Hirn-Schranke nicht überwinden.
Mit Hilfe der ventriculo-cisternalen Perfusion sind viele physiologische und pathophysiologische Fragestellungen untersucht worden, z.B. das extrazelluläre Flüssigkeitsvolumen des Gehirns (8, 9, 46, 201), Liquorproduktions- und absorptionsraten (79, 137), Mechanismen der Liquorhomöostase (59), zentrale Wirkungen verschiedener Pharmaka, die nach enteraler oder parenteraler Gabe die Blut-Hirn-Schranke nicht passieren, etc..

Bei der Erforschung schädigender Wirkungen im Gehirn von Material oder Substanzen, wie Bradykinin oder Plasma, ist die Frage von Bedeutung, wie weit das Material von der Ventrikeloberfläche in das Parenchym des angrenzenden Hirngewebes eindringen kann.

Nach zweistündiger, ventriculo-cisternaler Perfusion von Rhesusaffen mit 131-J-markiertem Humanalbumin finden BLASBERG, et al. (22) im Parenchym 0,5 mm von der ependymalen Oberfläche entfernt ca. 9% der Konzentration, in einer Tiefe von 1

mm ca. 5% und in 2 mm Tiefe noch ca. 1% der Konzentration, die sich im Perfusat befindet. Aus diesen Befunden geht hervor, daß es nach nur zwei Stunden Perfusionszeit zu einer Penetration von Albumin aus dem Seitenventrikel bis in eine Tiefe von ca. 2,5 mm kommen kann. Längere Perfusionen vergrößerten die Eindringtiefe jedoch nicht. Dies beruhte offensichtlich auf der Clearance aus dem Interstitium in Hirngefäße. Eine Vergrößerung der Eindringtiefe wie der Gewebskonzentration kann mit niedermolekularen Substanzen mit größeren Diffusionskoeffizienten erzielt werden, wie entsprechende Untersuchungen mit 125-J-Jodid zeigen (22).

Kininogene sind α_2-Globuline mit einem Molekulargewicht von 50.000 (LMW-Kininogen) und 100.000 (HMW-Kininogen). Ihre Diffusionskonstanten in wässriger Lösung liegen bei 5×10^{-7} $cm^2 \times s^{-1}$. Deshalb kann man gleiche Eindringtiefen und Gewebskonzentrationen wie von Albumin (MW 60.000, Diffusionskonstante 6×10^{-7} $cm^2 \times s^{-1}$) (54) annehmen. Bei Bradykinin mit einem Molekulargewicht von 1000 dürften Gewebskonzentrationen und Eindringtiefe größer sein.

b) Künstlicher Liquor:

Der für die Vorperfusion sowie bei Kontrolltieren verwendete künstliche Liquor entspricht weitgehend der physiologischen Beschaffenheit von natürlichem Liquor (vgl. Tab.1; 123). Seine Osmolarität (ca.305 mosm/l) lag geringfügig über der des Serums der Versuchstiere. Auch die Elektrolytkonzentrationen (Na^+, K^+, Ca^{++}, Mg^{++}) entsprachen den physiologischen Verhältnissen.

Weil das pH des künstlichen Liquors bei Verwendung von Bicarbonat als Puffer durch die Lagerung nicht konstant blieb, wurde $H_2PO_4^-/HPO_4^{--}$ als Puffer verwendet. Die Kapazität des Phosphatpuffers reichte jedoch nicht aus, während der Ventrikelpassage die Ansäuerung des Perfusats durch Diffusion von CO_2 aus dem Hirngewebe zu kompensieren. Das pH fiel nach Ventrikelpassage auf etwa 7,00.

Aus den vorliegenden Befunden geht nicht hervor, ob die Kontrollversuche mit künstlichem Liquor selbst bereits zu einer Zunahme des Wassergehalts im Hirngewebe führten. Bei Kontrollversuchen mit Ratten wurde eine geringfügige, nach 24

Stunden jedoch reversible Zunahme des Hirnwassergehaltes im Vergleich zu nicht-perfundierten Tieren beobachtet (10). Diese Wirkung hat wegen des Versuchsaufbaus jedoch keinen Einfluß auf die Interpretation der vorliegenden Ergebnisse.

c) Versuchstiere:

Aus folgenden Gründen wurden Hunde als Versuchtiere verwendet.

1) Die ventriculo-cisternale Perfusion konnte mit relativ großen Flußraten durchgeführt werden. Dadurch konnten Veränderungen verschiedener Parameter während der Ventrikelpassage (s. Tab. 2) im Effluat ohne Schwierigkeiten bestimmt werden. Bei Verwendung von Kleintieren hätte die Menge des Perfusats diesen Zweck nicht erfüllen können.
2) Die Gewinnung von homologem Plasma ist bei größeren Tieren erheblich einfacher.
3) Die Kontrolle physiologischer Größen, z.B. des Säure-Basen-Haushalts und insbesondere des Perfusionsdrucks, ist während der Ventrikelperfusion bei großen Tieren wesentlich exakter.

d) Kinin-Bioassay:

Zur Kininbestimmung wurde der von MANN, GEIGER und WERLE beschriebene Bioassay verwendet (122). Zu Beginn der Untersuchungen existierte bereits ein Radioimmunoassay für Bradykinin, der sich jedoch noch in Erprobung befand. Die für die Durchführung eines Radioimmunoassays erforderlichen Antikörper gegen Bradykinin waren jedoch nicht im Handel.

Für den Test wurden jungfräulichen Ratten mit einem Körpergewicht von 100-150g ca. 18 Stunden vorher 10 µg Stilböstrol zur Sensibilisierung des Uterus injiziert (87).

Etwa jeder dritte Uterus war verwendbar. Die von den Autoren des Tests (122) angegebene statistische Spannweite von ca. 3% wurde jedoch nicht erreicht. Sie betrug bei den eigenen Messungen 5-10%. Es wurde darauf geachtet, daß für sämtliche Proben (Perfusate) eines einzelnen Experiments stets nur ein Uruspräparat verwendet wurde.

Der Bioassay für Kinine mit isoliertem Rattenuterus ist selektiv und spezifisch für Bradykinin und seine Analoge (179). Allerdings kann die Kininaktivität im Bioassay durch verschiedene Substanzen verstärkt oder abgeschwächt werden. Eine Potenzierung des Bradykinin-Effektes ist z.B. durch Fibrinogenspaltprodukte (72, 73, 115) oder einige Aminosäuren und Peptide aus Leberextrakten (187) beobachtet worden.
Die Potenzierung durch Bradykinin-potenzierende Peptide, z.B. aus Schlangengiften oder eine Hemmung des Bradykinin-Effektes durch verschiedene Pharmaka (Antihistaminika oder Antipyretica) (62, 199) kann bei den Versuchen ausgeschlossen werden.

In Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe (119, 120, 121) konnten wir zeigen, daß Homogenate von normalem Hirngewebe, welches durch Gefrierfixation in-situ gewonnen wurde, im Bioassay so gut wie keine Kininaktivität hatten. Auch nach Inkubation mit Trypsin zur Liberierung von Kininen aus Kininogenen konnte keine nennenswerte Aktivität nachgewiesen werden. Eine Abgabe von Substanzen mit Uteruskontrahierender Aktivität aus dem periventrikulären Hirngewebe an das Perfusat kann mit großer Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden.

2. Mediatorsubstanzen des Hirnödems:

a) Das Konzept der Mediatorsubstanzen:

Verschiedene klinische Erkrankungen mit vasogenem Hirnödem, z.B. Schädel-Hirn-Traumen, Tumore, Abszesse u.a. haben eine Störung der Blut-Hirn-Schrankenfunktion als gemeinsamen Mechanismus. Die Permeabilitätserhöhung der Hirngefäße ermöglicht das Eindringen der vasogenen Flüssigkeit in das Interstitium des Hirnparenchyms. Dennoch ist die Ödemflüssigkeit kein Ultrafiltrat (34, 69, 144, 150), sondern enthält Substanzen, die entweder nicht im Plasma vorkommen oder in anderen Konzentrationen (74, 121).

Die Ausbreitung des Ödems in das Marklager durch "bulk flow" (156, 157) erklärt allenfalls die Volumenzunahme des Gehirns. Sie erklärt aber nicht warum es praktisch immer zur Schwellung von Nerven- und Gliazellen im ödematösen Parenchym kommt (13, 76, 81, 148). Die Entwicklung des vasogenen Ödems zusammen mit der sekundären Zellschwellung läßt sich nicht allein durch einen isolierten Defekt der Blut-Hirn-Schranke erklären. RAPOPORT, et al. (149) und NAGY, et al. (128) konnten nach reversibler Eröffnung der Blut-Hirn-Schranke durch Infusion von hyperosmolaren Lösungen in die A.carotis interna keine Wassergehalts- oder Elektrolytveränderungen im Gehirn finden. Das bedeutet, daß neben dem Defekt der Blut-Hirn-Schranke ein Nekroseherd für die Entstehung des vasogenes Ödem vorhanden sein muß.

Wenn überhaupt, ist der Nekroseherd Ort der Bildung bzw. Aktivierung von Mediatorsubstanzen, die mit der an dieser Stelle eindringenden Ödemflüssigkeit in das perifokale Gewebe transportiert werden. Dort kann es durch den Zerfall von Gewebe zur Freisetzung von neurotoxischem Material, z.B. Glutamat und freien Fettsäuren, kommen, die für die Entstehung von sekundären Zellschwellungen verantwortlich sind.

Ödemfaktoren oder Mediatorsubstanzen könnten neben einer zytotoxischen Wirkung auch über andere Mechanismen die Ödementstehung und -ausbreitung unterstützen. Sie könnten zu Veränderungen der Mikrozirkulation, z.B. zur Vasoparalyse führen. Sowohl eine Hyper- wie Hypoperfusion des ödematösen Parenchyms hätten negative Konsequenzen.

Ein weiterer Angriffsort von Mediatoren könnte auch die Blut-Hirn-Schranke sein. Mediatoren könnten nicht nur die primäre Blut-Hirn-Schrankenstörung aufrecht erhalten oder sogar steigern, sondern auch die Permeabilität noch intakter Hirngefäße verändern.

Folgende Eigenschaften überführen einen Mediator:

1) Seine cerebrale Applikation (z.B. durch ventriculo-cisternale Perfusion) muß einen Parenchymschaden, z.B. ein Hirnödem hervorrufen.
2) Ursachen, die zu einem Hirnödem führen (z.B. Schädel-Hirn-Trauma, Infarkt, etc.) sollten eine Freisetzung oder Aktivierung des Mediators bewirken.

3) Der Umfang der Mediatorfreisetzung oder -aktivierung sollte mit dem Umfang des Hirnödems in Beziehung stehen.
4) Die Hemmung der Mediatorfreisetzung oder -aktivierung sollte die Entwicklung des Sekundärschadens, des Hirnödems behindern oder zumindestens vermindern.

b) Bisher untersuchte Substanzen:

Eine Reihe von Substanzen sind inzwischen untersucht worden (Übersicht: s. 12): Ein Mediator, der den o.e. Kriterien in allen Punkten genügt, ist bisher nicht entdeckt worden. Im folgenden sind einige, besonders wichtige Kandidaten erörtert.

(1) Lysosomale Enzyme:

Bei Gewebs- bzw. Zellzerstörungen ist mit der Freisetzung von lysosomalen, d.h. proteolytischen Enzymen zu rechnen. Eine pathogenetische Funktion wäre beim Schädel-Hirn-Trauma, der Ischämie, schweren Entzündungen u.ä. denkbar.
KHATTAB (103) beobachtete elektronenmikroskopisch im Rückenmark asphyktischer Kaninchen den Verlust von lysosomalen Membranen mit Eindringen lysosomaler Enzyme ins Zytoplasma. BINGHAM, et al. (20) untersuchten bei Ratten Gewebs- und Liquorspiegel dieser Enzyme nach einem experimentellen Kältetrauma des Gehirns. 6 bzw. 12 Stunden nach dem Trauma fanden sie im Hirngewebe eine Abnahme der Aktivität der sauren Phosphatase, ß-Glycerophosphatase und von Kathepsin, was durch Behandlung mit Dexamethason reduziert wurde.

CLENDENDON, et al. (35) stellten beim Rückenmarkstrauma eine vorübergehende Freisetzung lysosomaler Enzyme aus dem Gewebe in den Liquor fest.
Die Befunde sprechen zwar übereinstimmend dafür, daß lysosomale Enzyme bei verschiedenen Formen der Hirnschädigung freigesetzt werden, sie zeigen jedoch, daß dieser Vorgang erst relativ spät nach dem Insult stattfindet. Es ist daher nicht sehr wahrscheinlich, daß lysosomale Enzyme in der Frühphase des Hirnödems (204) von Bedeutung sind. Für den weiteren Verlauf und die spätere Aufrechterhaltung des Ödems kann ihre Bedeutung hingegen nicht ausgeschlossen werden.

(2) Biogene Amine (Serotonin, Noradrenalin, Histamin):

OSTERHOLM, et al. (135) haben über die Freisetzung von Serotonin in den Liquor cerebrospinalis nach experimentellem Hirntrauma berichtet. Diese, wie andere Arbeitsgruppen (27) konnten außerdem durch intracerebrale Injektion von Serotonin (5-Hydroxytryptamin) ein vasogenes Hirnödem provozieren. Die Vorbehandlung der Versuchstiere mit Reserpin oder Chlorpromazin verhinderte das Ödem (27). Elektronenmikroskopische Beobachtungen von WESTERGAARD (200) sprechen dafür, daß Serotonin die Pinocytose im Gefäßendothel stimuliert.
FENSKE, et al. (58) hingegen konnten die Rolle von Serotonin bei der Entstehung des Hirnödems nicht bestätigen. Die ventriculo-cisternale Perfusion mit Serotonin von Versuchstieren führte nicht zu einer Blut-Hirn-Schrankenstörung und verstärkte auch nicht ein durch eine Kälteläsion induziertes Hirnödem.

In anderen Experimenten von OSTERHOLM, et al. (136) rief die Injektion von Noradrenalin ins Rückenmark hämorrhagische Nekrosen hervor, die auch nach einer traumatischen Querschnittsverletzung beobachtet werden.
Die Behandlung der Versuchstiere mit dem α-Blocker Phenoxybenzamin verminderte ein mechanisch-induziertes Trauma. OSTERHOLM, et al. (136) schlossen aus diesen Ergebnissen, daß der Freisetzung von Katecholaminen beim traumatischen Querschnitt des Rückenmarkes eine entscheidende pathologische Rolle zukommt. Entsprechende Befunde der Arbeitsgruppen von NAFTCHI und RAWE (127, 151) können diese Hypothese jedoch nicht unterstützen. Diese Autoren fanden weder eine Noradrenalinfreisetzung im traumatisierten Gewebe noch eine Reduktion des Sekundärschadens nach Applikation von α-Blockern.

JOO (95), KOBRINE (108) und NAFTCHI (127) vermuten eine Beteiligung von Histamin an der Ödemgenese. Jedoch liegen auch hier keine eindeutigen Befunde vor, welche diese Hypothese stützen können.

(3) Prostaglandine:

Aufgrund ihres großen Wirkungsspektrums (z.B. Steigerung der Gefäßpermeabilität, Dilatation oder Konstriktion von Gefäßen, etc.) sind Prostaglandine exzellente Kandidaten als Mediatoren des Sekundärschadens. JONSSON und DANIELL (94) zeigten einen Anstieg der Konzentration von $PGF_{2\alpha}$ nach Rückenmarkstrauma bei der Katze. PAPPIUS und WOLFE (143) konnten jedoch durch pharmakologische Blockade der $PGF_{2\alpha}$-und PGE_2-Synthese mit Indomethacin Entstehung und Ausbreitung des vasogenen Ödems nach fokaler Hitze- oder Kälteapplikation nicht beeinflussen. KONTOS, et al. (109) fanden in-vivo nach 15-minütiger Überschichtung der freigelegten Hirnrinde von Katzen mit Arachidonsäure, der Ausgangssubstanz für die Synthese von Prostanoiden, Endothelläsionen von Pia-Gefäßen, nicht jedoch nach Überschichtung mit $PGF_{2\alpha}$ oder PGE_2. Die Behandlung der Tiere mit Indomethacin verhinderte die Bildung der Läsionen. Falls im Ödemprozeß das kurzlebige Prostaglandin G_2 gebildet wird, könnte es an der Aufrechterhaltung oder Ausbreitung der pathologischen Gefäßpermeabilität beteiligt sein. Ebenso ist denkbar, daß durch Arachidonsäure und PGG_2 induzierte Endothelläsionen intravasale Thrombozytenadhäsionen und -aggregationen an der Gefäßwand fördern und damit die Mikrozirkulation beeinträchtigen.

(4) Lipide und freie Radikale:

Der Reichtum des Gehirns, besonders der weißen Substanz, an Lipiden, legt auch eine Beteiligung dieser Substanzgruppe am Sekundärprozeß nahe.

Beim vasogenen Hirnödem wurden elektronenmikroskopisch Schwellungen der Myelinscheiden, ihre Aufsplitterung und Demyelinisierung im Marklager gefunden (81, 129, 148, 164). Dem liegt als biochemisches Korrelat ein Abfall des Phospholipid-, Cholesterin- und Cerebrosidgehaltes in den betroffenen Arealen zugrunde (202). Die Demyelinisierung führt zu einer Anhäufung von Spaltprodukten, z.B. von freien Fettsäuren, im Ödemgebiet. Dazu kommen die in der vasogenen Flüssigkeit enthaltenen Fettsäuren aus dem Intravasalraum.

SATO, et al. (161) haben gezeigt, daß freie Fettsäuren die oxydative Phosphorylierung entkoppeln, wodurch die zelluläre Energiegewinnung gestört wird. Eine Störung der zellulären Energetik konnte auch mit Mitochondriensuspensionen aus ischämischen Hirnarealen beobachtet werden (113). Für eine Rolle von freien Fettsäuren als Ödemfaktoren sprechen weiterhin Befunde von CHAN (31), der Hirnschnitte in-vitro damit inkubierte. Nur bei Verwendung von ungesättigten freien Fettsäuren kam es zur Zellschwellung der Hirnschnitte, gesättigte Fettsäuren waren dagegen wirkungslos.
Auf die schädigende Wirkung der mehrfach ungesättigten Arachidonsäure (109) ist bereits eingegangen worden.

Ebenso bedeutsam scheinen freie Radikale zu sein, auf deren pathologische Wirkungsmechanismen DEMOPOULOS (49, 50) hingewiesen hat. Die hochreaktiven Moleküle attackieren nicht nur Lipide, sondern auch Proteine, Kohlenhydrate und Nucleinsäuren, also praktisch alle Bestandteile einer Zelle. Ihre toxische Wirkung beruht auf einer Konstitutionsänderung des Reaktionspartners, die zu einem Verlust der biologischen Funktion führt.
SUZUKI und YAGI (182) entdeckten Lipoperoxide im ödematösen Hirnparenchym; eine Behandlung mit Dexamethason verhinderte ihr Auftreten. Die Behandlung mit Antioxidantien (z. B. Diphenylparaphenylendiamin=DPPD), die in der Lage sind, freie Radikale zu binden und damit die Oxidation von Lipiden zu verhindern, verringerte das kälteinduzierte Ödem (134). LONG, et al. (118), fanden jedoch, daß DPPD wegen seiner Toxizität für therapeutische Zwecke ungeeignet ist.

(5) Glutamat:

Verschiedenen Aminosäuren, besonders Glutamat wird große Aufmerksamkeit geschenkt. Nekrosen von Zellen oder Gewebe können zu einer Freisetzung der Aminosäure in den Extrazellulärraum des Gehirn führen. Glutamat ist im Intrazellulärraum des Gehirns in hohen (12-15 mmol/l), extrazellulär dagegen in verschwindend geringen Konzentrationen (10-20 µmol/l) vorhanden (121, 146). Extrazellulär appliziert, erhöht Glutamat die Membranpermeabilität für Natrium-Ionen (3) und führt zur Zellschwellung (193). Konzentrationen von 8 mmol/l und darüber können Hirngewebsnekrosen erzeugen (192). Nach ventriculo-cisternaler Perfusion

von Ratten mit Glutamat (159) kommt es zu einem Hirnödem mit Anstieg des Natrium- und Abnahme des Kaliumgehaltes im Gewebe. Die zytotoxische Natur des Ödems zeigen Studien von KEMPSKI (102), der mit Impedanzmessung des Gehirns eine Vergrößerung des Intrazellulärraumes auf Kosten des Extrazellulärraumes fand. Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß freie ungesättigte Fettsäuren, freie Radikale und Glutamat neben dem KKK-System besonders attraktive Kandidaten für eine Rolle als Mediatoren des Sekundärschadens sind.

3. Das Kallikrein-Kinin-System als Mediator des Hirnödems:

a) Physiologie und Pathophysiologie:

(1) Komponenten:

Die Geschichte des Kallikrein-Kinin-Systems begann vor ca. 50 Jahren mit der Entdeckung einer hypotensiven Substanz im Urin durch FREY, KRAUT und WERLE (64, 110,111), die sie als Kallikrein bezeichneten.

WERLE und BEREK (198) konnten 1948 Kallidin als wirksame Substanz identifizieren, die durch Kallikrein aus einem α_2 -Globulin ("Kallidinogen") freigesetzt wird. Nahezu gleichzeitig gelang ROCHA E SILVA, et al. 1949 (158) die Darstellung des Bradykinins, einer Kallidin-ähnlichen Substanz. Die Verwandtschaft beider Peptide, welche die pharmakologisch wirksamen Substanzen des KKK-Systems sind, geht aus ihrer Primärstruktur hervor:

Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	Bradykinin (Nonapeptid)
Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-Pro-Phe-Arg	Kallidin (=Lys-Bradykinin) (Dekapeptid)

ELLIOTT und LEWIS (56) beschrieben 1965 eine dritte wirksame Substanz, das Met-Lys-Bradykinin. Die Proteine, aus denen Kinine freigesetzt werden, bezeichnet man als Kininogene. Sie kommen in der α_2 -Globulin-Fraktion des Plasmas vor.

Die Aktivierung und der Metabolismus der verschiedenen Komponenten des KKK-Systems sind in Abb. 25 schematisch dargestellt.

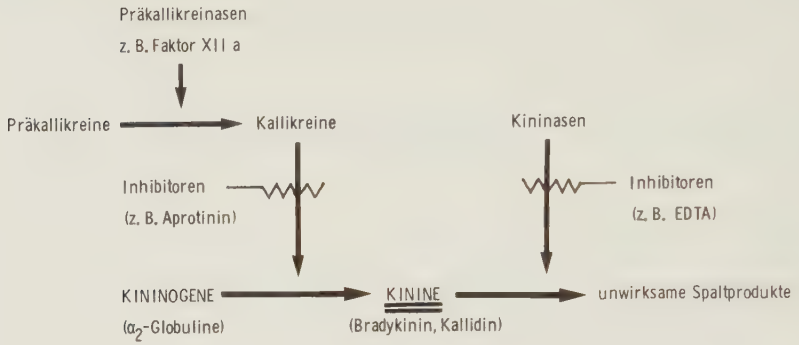

Abbildung 25: Reaktionsschema des Kallikrein-Kinin-Systems (nach E.K. FREY, H. KRAUT und E. WERLE, 65).

Durch Aktivierung des Gerinnungsfaktors XII (Hageman-Faktor) wird im Plasma vorhandenes Präkallikrein (Fletcher Faktor) in Kallikrein umgewandelt. Damit hat der aktivierte Hageman-Faktor die Funktion einer Präkallikreinase. Präkallikrein wird durch eine limitierte proteolytische Reaktion so verändert, daß das aktive Zentrum des Kallikrein-Moleküls durch eine stereochemische Umlagerung freigelegt wird (126). Weitere Präkallikreinasen sind Trypsin, Thrombin, die C_1-Esterase und Plasmin (126).

Präkallikrein und Kallikrein haben ein Molekulargewicht von ca. 100.000. Man unterscheidet das im Plasma vorhandene Kallikrein von verschiedenen Organkallikreinen. Neben seiner Wirkung im KKK-System spielt Plasmakallikrein eine wichtige Rolle bei der Gerinnung. Kallikrein aktiviert in Gegenwart von Kininogenen den Hageman-Faktor (Faktor XII) (36). Daher betrachtet man heute das Plasmakallikrein vorwiegend als Gerinnungs- bzw. Fibrinolyse-Faktor.

Durch Kallikrein werden aus Kininogenen die pharmakologisch wirksamen Kinine proteolytisch freigesetzt.
Die Unterscheidung in HMW-Kininogen (high molecular weight, MW 100.000-120.000) und LMW-Kininogen (low molecular weight, MW 50.000-80.000), die beide im Plasma vorhanden sind, ist derzeit ohne eindeutige funktionelle Bedeutung. Plasmakallikrein hat für HMW-Kininogen eine höhere Substratspezifität und scheint bei der Gerinnung und Fibrinolyse eine größere Rolle als LMW-Kininogen zu spielen. Für andere spezifische Wirkungen der verschiedenen Kininogene fehlen bisher Anhaltspunkte.
Die aus Kininogenen abspaltbaren Kinine (Bradykinin, Kallidin und Met-Lys-Bradykinin) sind nur in ihrer quantitativen Wirkung biologisch zu unterscheiden. Kallidin und Met-Lys-Bradykinin werden durch Aminopeptidasen schnell in Bradykinin umgewandelt.
Die intravasale Halbwertszeit für Kinine beträgt ca. 30 Sekunden (57). Ihre örtliche und zeitliche Wirkung ist daher eng begrenzt.

Für ihre schnelle Inaktivierung sorgen Kininasen. Diese bauen Kinine proteolytisch zu pharmakologisch unwirksamen Spaltprodukten ab. Davon abgesehen haben Kininasen noch weitere biologische Funktionen. Kininase I inaktiviert Anaphylatoxine, Kininase II (=Angiotensin-converting enzyme) wandelt Angiotensin I in Angiotensin II um.
In diesem Zusammenhang sei noch ein im Liquor cerebrospinalis von Migränepatienten (44, 97, 98) gefundenes kinin-spaltendes Enzym erwähnt, welches im Hirngewebe von Ratten und Mäusen entdeckt wurde (28). Kininasen sind ubiquitär, nicht nur im Plasma, sondern auch in allen Geweben, vorhanden. Im Gehirn ist ebenfalls eine hohe Kininase-Aktivität nachweisbar (33), wie auch die eigenen Ergebnisse zeigen (190,191).

Im Organismus wird Aktivierung wie Abbau von Kininen durch Inhibitoren der Kallikreine und der Kininasen mit gesteuert. Dadurch reflektieren effektive Kininkonzentrationen ein Gleichgewicht zwischen den aktivierenden und inaktivierenden Enzymen auf der einen Seite und deren Inhibitoren auf der anderen Seite. Für Kallikreine und Kininasen sind natürliche wie synthetische Inhibitoren bekannt.

Natürliche Kallikrein-Inhibitoren im Plasma sind α_2-Makroglobulin, α_1-Antitrypsin, Antithrombin III, C_1-Esterase-Inhibitor. Hinzu kommen weitere natürliche Proteinase-Inhibitoren wie z.B. ein polyvalenter Proteinase-Inhibitor aus Rinderorganen (BPTI), der als Aprotinin (z.B. Trasylol^R) im Handel ist, ein Trypsin-Inhibitor aus Sojabohnen (SBTI) sowie verschiedene synthetische Inhibitoren (z.B. Di-isopropyl-fluorphosphate).

Über die Hemmung der Faktor XII-Aktivierung in Anwesenheit von Antithrombin III (177) greift auch Heparin in das KKK-System ein. Außerdem verstärkt Heparin die Kallikrein-Hemmung durch Antithrombin III (30).

Die Aktivität der Kininasen wird u.a. durch verschiedene, nicht näher identifizierte Albuminfragmente, freie Fettsäuren, das Pentapeptid BPF$_{5\alpha}$ aus Schlangengift sowie eine Reihe von Chelatbildnern (z.B. EDTA) und Verbindungen mit SH-Gruppen, z.B. Cystein, gehemmt.

(2) Allgemeine Wirkungen:

Kinine besitzen ein großes biologisches und pharmakologisches Wirkungsspektrum. Einige besonders hervorstechende Effekte seien hier angeführt:

1. Kinine führen nach intravenöser Applikation zur Erweiterung peripherer Gefäße (hauptsächlich Arteriolen, 205) und dadurch zur Abnahme des arteriellen Blutdrucks.
2. Kinine kontrahieren glatte Muskulatur, z.B von Bronchien, Darm und Uterus.
3. Kinine erhöhen die Kapillarpermeabilität (90, 162, 205).
4. Durch Stimulation der Schmerzrezeptoren sind Kinine bei der Erzeugung des Schmerzes beteiligt. Sie stellen die am stärksten wirksamen Schmerzinduktoren dar.

Für die unter 1. - 4. geschilderten Wirkungen erforderliche Schwellenkonzentrationen liegen bei 10^{-10} und 10^{-9} mol/l (i.e. 0,1-1 ng Bradykinin/ml). Wirkungen der Kinine sind nicht nur auf Interaktionen mit spezifischen Kininrezeptoren zurückzuführen (Übersicht s.: 130), sondern auch auf das Eingreifen in andere Mediatorsysteme. Von TERRAGNO, et al. und FEREIRA, et al. (63, 185) wurde auf die Wechselwirkung der Kinine mit Prostaglandinen der E-Reihe hingewiesen. Die

Bradykininwirkung kann durch Prostaglandine verstärkt werden, und Bradykinin selbst kann zu einer Freisetzung von Prostaglandinen führen. Von STONER, et al. (180) wurden Wechselwirkungen mit cyclo-AMP und cyclo-GMP berichtet. Interaktionen mit biogenen Aminen (Katecholamine, Serotonin, Histamin) sind ebenfalls bekannt (25, 186).

Eine Möglichkeit, die Wirkung von Kininen direkt zu beeinflussen, ist die Blockade und die Sensibilisierung der Kininrezeptoren. Ein Beispiel sind zuerst aus Schlangengift isolierte "Bradykinin-potentiating factors" (62), die nicht nur Kininasen hemmen, sondern auch die Rezeptoren für Bradykinin sensibilisieren. Es ist jedoch nicht bekannt, ob Bradykinin-potenzierende Faktoren auch im Gewebe vorkommen. Antikörper und verschiedene synthetische Derivate können Bradykinin-Rezeptoren blockieren.

(3) Wirkungen im Zentralnervensystem:

An dieser Stelle sollen nur die für das Verständnis der vorliegenden Befunde notwendigen Effekte des KKK-Systems im Zentralnervensystem diskutiert werden. Man kann zentralnervöse Wirkungen von Kininen nach intravenöser und intrathekaler Applikation voneinander unterscheiden.

Nach intravenöser Kiningabe (0,5-15 µg Bradykinin/kg KG) beobachtet man im Tierexperiment eine Tachy- und Hyperpnoe (70), bei Dosen zwischen 20 und 60 µg/kg KG sogar einen Atemstillstand (71). Die Tachy- und Hyperpnoe soll auf die Erregung afferenter, vagaler Fasern zurückzuführen sein, während die Apnoe eine zentrale Ursache hat (71).

Über die Wirkung von Kininen auf die Hirngefäße und die Durchblutung liegen widersprüchliche Befunde vor. CARPI und CORRADO (29) beobachteten eine Dilatation von Hirngefäßen (0,5-3,0 µg Bradykinin /kg KG i.v.) beim Hund. BERETTA, et al. (15) fanden dagegen weder eine Änderung des cerebralen Gefäßwiderstandes, der Hirndurchblutung noch des O_2 -Verbrauches. TODA (188) fand in-vitro, daß Kinine isolierte cerebrale Arterien des Hundes (A. carotis externa und interna, A. basilaris, A. cerebri media et posterior) kontrahieren. Hirnarterien von Menschen wurden dagegen durch Bradykinin relaxiert (173, 188).

Neuere Untersuchungen mit Katzen von WAHL (195) demonstrieren die große vasodilatatorische Potenz von Bradykinin. Nach Mikroapplikation von nur 10^{-6} M Bradykinin kam es zur Dilatation von Pia-Arterien von über 30 %.

Beim Menschen führt die i.v. Applikation von Kininen zum Anstieg des intrakraniellen Drucks (167, 169, 173). Diese Beobachtung findet möglicherweise in der Erweiterung der Hirngefäße ihre Erklärung.

Nach intrathekaler Injektion von Kininen (33) in Dosen zwischen 0,5 und 100 µg lassen sich eine frühe (2-5 min) und eine späte (30-120 min) Reaktionsphase unterscheiden. Unmittelbar nach intrathekaler Injektion kommt es bei nicht-narkotisierten Tieren zu einem Blutdruckanstieg. In der frühen Reaktionsphase (2-5 Minuten nach Applikation) fällt der Blutdruck jedoch meistens ab. Eine motorische Hyperaktivität beherrscht das Bild. Damit korreliert eine Aktivierung im EEG, die bis zur Synchronisation gehen kann.
Später, 30-120 Minuten nach Applikation, ist die motorische Aktivität dagegen bis zur Katatonie herabgesetzt. Das EEG ist wieder desynchronisiert, kann aber Spindeln aufweisen.

Experimentelle Befunde nach Gabe von Bradykinin in die Hirnventrikel sind äußerst unterschiedlich. Dies mag u.a. an der Verwendung verschiedener Versuchstierarten, Narkosemethoden und -dosierungen liegen. Besonders unterschiedlich ist die Reaktion des Blutdrucks. In den eigenen Untersuchungen mit ventriculocisternaler Perfusion wurden keine Änderungen des Blutdrucks bei Verwendung von Bradykinin gefunden. Ausgehend von einem Ventrikelvolumen von ca. 5 ml beim Hund (101) und einer Flußrate von 1 ml/min errechnet sich bei diesen Versuchen eine Dosis von ca. 15 µg Bradykinin, die innerhalb 5 min dem Gehirn zugeführt wurde. CUPARENCU, et al. (40) fanden ebenfalls bei narkotisierten Hunden , daß die intraventrikuläre Injektion von 10 µg Bradykinin keinen Einfluß auf den systemischen Blutdruck hatte. Es läßt sich derzeit nicht beantworten, ob zentrale Wirkungen der Kinine auf Interaktionen mit anderen Systemen z.B. Prostaglandinen oder biogenen Aminen, beruhen. Eine Beteiligung von Katecholaminen ist jedoch wahrscheinlich (77).

(4) Beteiligung bei cerebralen Erkrankungen:

Bisher liegen nur wenige Untersuchungen vor, die für eine Beteiligung des KKK-Systems bei cerebralen Krankheitsprozessen sprechen.
CHAPMAN und WOLFF sowie KANGASNIEMI (32, 97, 98) fanden im Liquor von Migränepatienten erhöhte Kininkonzentrationen. HAMBERG (78) konnte im Liquor von Patienten mit Schizophrenie und multipler Sklerose das Auftreten einer Kininogenase beobachten, nicht jedoch im Liquor gesunder Patienten. Es ist jedoch fraglich, ob eine Bradykininfreisetzung bei diesen Erkrankungen von pathogenetischer Bedeutung ist, oder ob sie eher unspezifisch durch den Untergang von Parenchym mit Freisetzung von Enzymen in den Liquor zu erklären ist.

SICUTERI hat sich ausführlich mit der Rolle des KKK-Systems bei cerebralen Blutungen auseinandergesetzt. Er beobachtete (170, 174), daß bereits in vitro die Verdünnung von Plasma oder Blut mit Liquor zu einer Freisetzung von Kininen führt. Deshalb postuliert er, daß Subarachnoidalblutungen mit einer Aktivierung des Systems einhergehen. Auch die Aktivierung von Proteinasen, die bei jeder Gewebetraumatisierung denkbar ist, könnte zur Beteiligung des KKK-Systems führen. Nach Subarachnoidalblutungen auftretende Kopfschmerzen und Meningismus führt SICUTERI (171) auf die Wirkungen von Kininen zurück. Kininrezeptoren sind in den Hirnhäuten nachgewiesen. Er berichtet, daß die Behandlung komatöser Patienten mit Subarachnoidal- oder intrazerebralen Blutungen mit Aprotinin (Trasylol®) in einer Dosis von 100.000 KIE (Kallikrein-Inhibitor-Einheiten) alle 12 Stunden i.v. die Dauer des Koma signifikant verkürzt (172).

Für die Beteiligung des KKK-Systems bei der Entstehung und Aufrechterhaltung des vasogenen Hirnödems gibt es theoretische sowie experimentelle Anhaltspunkte. Beim vasogenen Hirnödem gelangen die Komponenten des KKK-Systems aus dem Intravasalraum durch die defekte Blut-Hirn-Schranke zusammen mit der Ödemflüssigkeit in das Interstitium (119,120). Dabei ist vorstellbar, daß allein durch die Verdünnung der Ödemflüssigkeit mit Liquor bzw. interstitieller Flüssigkeit eine Kininliberierung erfolgt (170,171,174).

Die freigesetzten Kinine könnten:
-die pathologische Gefäßpermeabilität der Hirngefäße verstärken,
-die Hirndurchblutung im geschädigten Areal durch Dilatation der Gefäße erhöhen,und
-dadurch zu einer Steigerung des intrakraniellen Drucks führen.

Eine vermehrte Hirndurchblutung würde die Bildung und Ausbreitung des vasogenen Hirnödems begünstigen. Die durch die erhöhte intrakranielle Blutfülle hervorgerufene Steigerung des intrakraniellen Drucks könnte bei bereits vorhandener intrakranieller Raumforderung zur Mittel- und Stammhirneinklemmung sowie zur sekundären zerebralen Ischämie führen. Davon abgesehen sind zytotoxische Wirkungen von Kininen ebenfalls in Betracht zu ziehen.

Experimentelle Befunde haben gezeigt, daß die Injektion von Plasma in die Cisterna magna von Kaninchen (23) zu einer Permeabilitätszunahme der Hirngefäße führt, wie aus der gesteigerten Aufnahme von i.v. injiziertem 131-J-Albumin ins Hirnparenchym hervorgeht. Die Injektion von Aprotinin (Trasylol^{R}) verhinderte den Übertritt von 131-J-Albumin in den Liquor. Der Autor nimmt an, daß eine Hemmung der Kininliberierung durch Aprotinin für den therapeutischen Effekt verantwortlich gemacht werden kann. Er untersuchte jedoch nicht, ob sich ein Hirnödem entwickelt hatte. Untersuchungen von WENDEL und SEIDEL (197) sprechen ebenfalls für eine Beteiligung des KKK-Systems an der Schädigung der Blut-Hirn-Schrankenfunktion. Eine bei Ratten durch zervikale Lymphgefäßdurchtrennung erzeugte Blut-Hirn-Schrankenstörung verlief nach experimentell induziertem Verbrauch von Plasmakininogen durch intravenöse Injektion von Cellulosesulfat oder Kallikrein wesentlich milder.
TZONOS und RANA (189) fanden nach Mikroembolisierung des Gehirns von Ratten, daß Aprotinin (ca. 100.000 KIE/kg KG vor Embolisierung und ca. 100.000 KIE/kg KG alle sechs Stunden nach Mikroembolisierung) die Mortalität erheblich reduzierte. Der Inhibitor beeinflußte ebenfalls den neurologischen Befund sowie die histologischen Veränderungen im Gehirn. Die Autoren führen diese Ergebnisse auf eine Hemmung der Ödembildung zurück, wenngleich entsprechende Untersuchungen dazu nicht vorgenommen wurden.

Erste Hinweise für eine Ödem-induzierende Wirkung des KKK-Systems lieferten OETTINGER, et al. aus unserer Arbeitsgruppe (132). Nach ventriculo-cisternaler Perfusion von Ratten mit homologem Plasma, kam es zur Entwicklung eines Hirnödems. Gleichzeitig wurde während der ventriculo-cisternalen Perfusion ein Anstieg des intrakraniellen Druckes im Vergleich zu Kontrolltieren, die nur mit künstlichem Liquor perfundiert wurden, beobachtet.
Während der Perfusion mit Plasma wurden Kinine gebildet, wie aus der Abnahme der Kininogenkonzentration des Perfusates nach Ventrikelpassage hervorging. Wenngleich keine direkte Korrelation zwischen der Bildung von Kininen während der Perfusion und dem Umfang des Hirnödems gefunden wurde, fiel auf, daß das Hirnödem umso ausgeprägter war, je früher die Freisetzung von Kininen im Perfusat ein Maximum erreichte. Diese ersten experimentellen Untersuchungen wurden durch die vorliegende Arbeit erweitert. In diesen Experimenten sollte geklärt werden, ob Kinine selbst für eine Ödementstehung verantwortlich gemacht werden können und wenn ja, welche Eigenschaften dieses Ödem hat und welche Hirnareale besonders betroffen sind.

Inzwischen liegen auch Befunde über die Wirkung von Aprotinin (Trasylol^{R}) auf das vasogene Hirnödem (Kälteläsion) bei Katzen vor. CZERNICKI (42) applizierte 30 Min. vor dem Kältetrauma 10.000 KIE/kg KG, nach der Kälteläsion noch einmal 6.000 KIE/kg KG und jede weitere Stunde 6.000 KIE/kg KG. Aprotinin verminderte signifikant den Wasser- und Natriumgehalt im ödematösen Hirngewebe. Die Bestimmungen wurden 6 Stunden nach dem Trauma durchgeführt. Die Therapie mit Aprotinin limitierte auch den Anstieg des intrakraniellen Drucks. Untersuchungen, ob der therapeutische Effekt des Inhibitors mit der Hemmung des Kallikrein-Kinin-Systems im Gehirn im Zusammenhang stand, wurden jedoch nicht durchgeführt.

b) Das KKK-System bei der ventriculo-cisternalen Perfusion:

(1) Perfusion mit Bradykinin (Gruppe III):

Die im Perfusat verwendete Bradykininkonzentration richtete sich nach der im Plasmaperfusat der Gruppe II gefundenen Kininogenkonzentration.

DINIZ und CARVALHO (53) fanden bei Hunden im Plasma Kininogenkonzentrationen von 4.700-8.200 ng/ml freisetzbarem Kinin (Mittelwert: 6.000 ng/ml). In unserer Arbeitsgruppe wurden bei Hunden Konzentrationen von ca. 2.000 bis 3.000 ng/ml gefunden.

Daraus ergab sich eine Bradykinin-Konzentration im Perfusat (Gruppe III) von 3.000 ng/ml.

Im Bradykininpräparat (Bradykinintriazetat der Fa. Serva, Heidelberg) wurden in Vortestungen gegen das Referenzpräparat der Fa. Sandoz, Basel, ca. 25-30% der nominalen Aktivität gefunden, was beim Herstellen des Bradykininperfusates berücksichtigt wurde.

Bei Bestimmungen der Bradykinin-Konzentration im Perfusat wurden Kininkonzentrationen von 1234 und 4165 ng/ml, im Mittel 2476 ng/ml gemessen (s. Abb. 24).

Wie aus Abb. 24b hervorgeht, wurden im Effluat nur 20-40% der im Perfusat vor Ventrikelpassage vorhandenen Kininkonzentration wiedergefunden. Die Konzentrationsabnahme war nicht auf eine Verdünnung zurückzuführen, wie aus der 14-C-Inulinaktivität im ein- und ausströmenden Perfusat hervorgeht. Die Abnahme der Kininkonzentration im Perfusat nach Passage der Hirnventrikel beruht auf einer Clearance von Bradykinin durch das periventrikuläre Hirngewebe durch Abbau oder Aufnahme in das Parenchym.

Viele Autoren haben zeigen können, daß das Gehirn zur Inaktivierung von Kininen fähig ist (84, 112). Nach HORI (85) befinden sich Kinin-spaltende Enzyme in erster Linie im Cytoplasma, weniger dagegen in Mikrosomen oder Mitochondrien. Das Cerebellum hatte die höchste Kininase-Aktivität (92).

Es lassen sich zwei spezifische Gehirnkininasen (A und B) nachweisen, außerdem in besonders hoher Aktivität die Kininase II (94). Kininase II (= ACE, angiotensin-converting enzyme) wird in Nervenzellmembranen, besonders im Striatum, im Ependym und in Zellen des Plexus chorioideus gefunden (57, 66).

Aus den vorliegenden Ergebnissen errechnet sich eine Kininaseaktivität des periventrikulären Hirngewebes und des Plexus chorioideus von 1.500-1.900 ng Bradykinin/min (=1,5-1,9 nmol/min).
Das bedeutet, daß das Gehirn in einer Minute die gesamte, aus Kininogen freisetzbare Kininkonzentration von 0,5 ml Plasma inaktivieren könnte. Das Hirnparenchym war dennoch beträchtlichen Kininkonzentrationen exponiert worden.
Die ventriculo-cisternale Perfusion des Gehirns mit Bradykinin führt zum Hirnödem. Eine statistisch gesicherte Beziehung zwischen dem Umfang der Wassereinlagerung in das Hirngewebe und der Kinindosis wurde jedoch nicht gefunden. Es ist anzunehmen, daß die Bradykinindosis den oberen Dosiswirkungsbereich überschritten hatte.

(2) Perfusion mit Plasma (Gruppe II):

Die Kininogenkonzentrationen im Plasmaperfusat variierten beträchtlich; die Konzentrationen lagen zwischen 1487 und 4244 ng/ml ($\bar{x}$=2687 $\pm$ 810 ng/ml). DINIZ und CARVALHO (53) fanden bei Hunden Kininogenkonzentrationen von 4.700-8.200 ng/ml im Plasma ($\bar{x}$=6.000 ng/ml). Von natürlichen Schwankungen des Kininogenspiegels im Plasma und möglichen Einflüssen der Narkose abgesehen, könnte der Konzentrationsunterschied auch methodische Ursachen haben. Von Bedeutung könnten Antikoagulantien und eine vorangehende Abkühlung (4,5) sein. In den vorliegenden Experimenten muß während der Zentrifugation des Spenderblutes mit einer gewissen Abkühlung gerechnet werden.

Die Methode der Gerinnungshemmung ist auch mit Hinblick auf die Aktivierung des KKK-Systems von Bedeutung. Heparin greift durch Hemmung von Faktor XII und von Kallikrein in Anwesenheit von Antithrombin III in das System ein (30, 177). Dadurch könnte die Kininliberierung während der Ventrikelperfusion gehemmt werden. Andererseits könnte EDTA durch Hemmung der Kininasen die Kininwirkung potenzieren (57). Die nur in 5 von 9 Versuchen beobachtete Bildung von Kininen und der relativ geringe Umfang der Kininfreisetzung sprechen möglicherweise für eine Hemmung der Kininaktivierung durch Heparin.

Eine andere Frage ist, unter welchen Umständen bei der Ventrikelperfusion eine Kininliberierung aus Kininogenen im Hirnparenchym stattfinden konnte. Außer einer Aktivierung des Systems durch Verdünnung von Plasma mit Liquor (170, 174) könnte eine im Gehirn gefundene Kininogenase-Aktivität (85) eine Rolle spielen. Sie wird vor allem in den Mikrosomen gefunden. Die Kininogenase-Aktivität des Gehirns ist jedoch geringer als die anderer Organe (86). Untergänge von Parenchym oder Zellen könnten zu einer Freisetzung führen. Eine weitere Möglichkeit der Aktivierung des KKK-Systems ist die Liberierung von Sulfatiden im Gewebe (184).

Einer besonderen Betrachtung bedürfen die in 4 von 9 Versuchen der Gruppe II beobachteten Kininogenkonzentrationen im Effluat, die über den Konzentrationen des in den Ventrikel einströmenden Plasmas lagen. Ein Konzentrierungsvorgang während der Perfusion durch Wasserabgabe aus dem Perfusat in das Gewebe muß durch das Inulin-Aktivitätsprofil ausgeschlossen werden. Folgende Ursachen könnten infrage kommen:

1. Es handelt sich um einen Meßfehler. Der Variationskoeffizient der Kininogenbestimmung in verschiedenen Bioassayansätzen lag bei 10%. Alle Proben eines Versuches wurden jedoch im gleichen Testansatz bestimmt. Selbst unter der Annahme eines Meßfehler von 10% im ungünstigsten Fall kann eine Zunahme der Effluatkonzentration um ca. 50% damit nicht erklärt werden.
2. Kininogene oder Kinine wurden vom Parenchym an das Perfusat abgegeben:
   a) Die Abgabe von Kininogenen oder Kininen aus dem Parenchym ist unwahrscheinlich. DAMAS (44, 45) und PELA, et al. (145) berichten zwar über eine "kinin-like-activity" im Hirngewebe, doch müssen zu ihrem Nachweis die Kininasen inaktiviert werden.

Die in den Versuchen der Gruppe III (Perfusion mit Bradykinin) im periventrikulären Hirngewebe gefundene Kininase-Aktivität spricht gegen eine Abgabe von Kininen an das Perfusat. Darüberhinaus zeigen Bestimmungen unserer Arbeitsgruppe, daß normales Hirngewebe mit intakter Blut-Hirn-Schrankenfunktion keine im Bioassay meßbaren Kininogenkonzentrationen enthält (119, 120, 121). In Stichproben der Kontrollgruppe (Perfusion mit künstlichem Liquor) wurden im Effluat ebenfalls keine Kininogen-Beimengungen gefunden.

b) Alternativ ist eine Freisetzung von Bradykinin-potenzierenden Faktoren (62) denkbar. Warum dies jedoch nur bei 4 von 9 Versuchen erfolgt sein soll, kann nicht erklärt werden.

c) Eine andere Erklärung könnte in der bei der tryptischen Umsetzung des Perfusates (s. Methodik) von Kininen aus Kininogenen erfolgten Bildung von Bradykinin-Analogen (z.B. Gly-Arg-Met-Lys-Bradykinin) zu finden sein, die eine höhere biologische Aktivität im Uterus-Bioassay als Bradykinin selbst haben (178). Beobachtungen, welche diese Vermutung unterstützen, gibt es jedoch nicht.

Zusammengenommen erklären diese Angaben die Erhöhung der Kininogenkonzentrationen im Effluat nur unzureichend.

Der Umfang der Kininliberierung in 5 von 9 Experimenten mit Aktivierung des Systems lag zwischen 140 und 1.100 ng Bradykinin/min ($\bar{x}$=565 ng/min). Wenn man von der in Gruppe III gefundenen Kininaseaktivität des Gesamthirns ausgeht, überschreiten diese Mengen nicht die Clearancekapazität des Gewebes.
Daher erscheint der Versuch lohnend, eine Dosis-Wirkungs-Analyse zwischen dem Umfang der Kininliberierung und den Veränderungen des Wasser- und Elektrolytgehaltes im Hirngewebe vorzunehmen.

4. Wirkungen der ventriculo-cisternalen Perfusion mit Bradykinin und homologem Plasma:

a) Cerebraler Wasser- und Elektrolythaushalt:

Zum besseren Verständnis der ventriculo-cisternalen Perfusion mit homologem Plasma oder Bradykinin müssen die Ergebnisse der Kontrollgruppe (Gruppe I, künstlicher Liquor) berücksichtigt werden.

Wie erwähnt, wurde der künstliche Liquor hinsichtlich Osmolarität, Elektrolytzusammensetzung und pH physiologischen Bedingungen angepaßt (s. Tab. 1). Nur die Verwendung eines Phosphat-Puffers entsprach nicht normalen Bedingungen. Eine Beeinflussung des periventrikulären Hirngewebes durch das niedrige pH im Perfusat ist zwar nicht auszuschließen, wegen der großen Pufferkapazität des Hirngewebes jedoch nicht wahrscheinlich.

Der Einfluß der ventriculo-cisternalen Perfusion mit künstlichem Liquor auf Wasser- und Elektrolytgehalt des Gehirns ist in Tab. 4 dargestellt. Dort sind die Parameter im Gehirn von normalen, i.e. unbehandelten Kontrolltieren mit den entsprechenden Befunden der eigenen Kontrollgruppe (ventriculo-cisternale Perfusion mit künstlichem Liquor) verglichen worden.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, stimmen die Ergebnisse der Kontrollgruppe I mit den Befunden von PAPPIUS, et al. (139) und SHIBATA, et al. (166) sehr gut überein. Der Vergleich läßt die Annahme zu, daß die Perfusion mit künstlichem Liquor selbst zu keiner wesentlichen Änderung der Beschaffenheit des Hirngewebes geführt hat.

Tabelle 4: Cerebraler Wasser- und Elektrolytgehalt von Hunden.
Die Werte der Kontrollgruppe (I, künstl. Liquor) sind mit Angaben der Literatur verglichen.

	Gruppe I n = 7	SHIBATA, et al. (166) n = 16	PAPPIUS, et al. (139) n = 15
1) Cortex			
Wassergehalt	80,9 ± 0,6	79,8 ± 1,2	80,1 ± 0,8
Na^+-Gehalt	290 ± 25	279 ± 24	302 ± 20
K^+ -Gehalt	548 ± 28	519 ± 24	492 ± 30
2) Nc.caudatus			
Wassergehalt	80,3 ± 0,8	—	—
Na^+-Gehalt	261 ± 40	—	—
K^+ -Gehalt	503 ± 46	—	—
3) Weiße Substanz			
Wassergehalt	66,2 ± 1,0	66,7 ± 1,7	66,1 ± 0,8
Na^+-Gehalt	155 ± 22	153 ± 12	168 ± 9
K^+ -Gehalt	272 ± 22	267 ± 15	230 ± 21

$\bar{x}$ + s; Wassergehalt in ml/100 g F.G.
Na^+-Gehalt in mmol/kg T.G.
K^+ -Gehalt in mmol/kg T.G.

(1) Bradykinin-Perfusion:

Die Ventrikelperfusion mit Bradykinin (Gruppe III) führt in allen untersuchten Hirnarealen (Hirnrinde, Nc. caudatus und Hirnmark) zu einem Anstieg des Wassergehaltes (vgl. Tab. 3, und Abb. 3).

Dieser Befund könnte bereits einen ersten Hinweis auf die Natur des durch Bradykinin induzierten Ödems geben. Aus morphologischen Untersuchungen geht hervor, daß das Ödem der grauen Substanz (Hirnrinde und Kerngebiete) vorwiegend intrazellulär, während die Ödemflüssigkeit im Mark, zunächst überwiegend im Extrazellulärraum lokalisiert ist (1, 2, 153).

Das cytotoxische Ödem hat keine Bevorzugung eines Hirnareals. Die intrazelluläre Flüssigkeitsansammlung ist ubiquitär, sie betrifft Rinde, Kerngebiete und weiße Substanz in ähnlicher Weise. Untersuchungen mit Dinitrophenol (7, 9), 6-Aminonikotin (7, 9), Ouabain (37) oder Glutamat (102, 192) bestätigen dies. Wenngleich Einzelheiten über die Pathomechanismen des cytotoxischen Ödems unbekannt sind, müssen Störungen der aktiven Pumpmechanismen, z.B. der Na^+/K^+-ATPase, der zellulären Energiegewinnung sowie Änderungen der Zellmembranpermeabilität beteiligt sein.

Histologische und funktionelle Untersuchungen, die für eine Lokalisation des Ödems, somit eine pathophysiologische Zuordnung erforderlich wären, wurden nicht vorgenommen.

Zahlreiche experimentelle und klinische Befunde weisen auf die enge Korrelation zwischen dem Anstieg des cerebralen Wassergehalts und der Akkumulation von Na^+ im ödematösen Gewebe hin. Dies gilt für den cytotoxischen wie vasogenen Ödemtyp (9, 14, 82, 88, 99, 138, 154, 175).

Die eigenen Ergebnisse der Gruppe III (Bradykinin) bestätigen erneut diese Beziehung (vgl. Abb. 6). Eine signifikante Zunahme des Na^+-Gehalts wurde im Nc. caudatus gefunden. Die Veränderungen in der Hirnrinde und weißen Substanz waren dagegen nicht signifikant.

Die Zunahme des Na^+-Gehalts im Nc. caudatus korreliert mit dem Anstieg des Wassergehaltes ($r=0{,}75$; $p<0{,}01$) wie die Regressionsanalyse in Abbildung 6 zeigt.

In diesem Zusammenhang stellt sich die Frage nach der Herkunft der Ödemflüssigkeit, ob der Wasser- und Natriumeinstrom aus der Perfusionslösung oder aus den Hirngefäßen erfolgte.
Eine isotone Aufnahme von Na^+ und Wasser aus der Perfusionslösung unter Ausschluß des Volumenmarkers würde ein Ansteigen der 14-C-Inulin-Aktivität im cisternalen Effluat bewirken, sich hingegen nicht auf Na^+-Konzentration und Osmolarität auswirken. Wie aus Abb. 9 hervorgeht, wird tatsächlich ein solcher Befund in Gruppe III (Bradykinin) während der ersten 30 Min. der Perfusion erhoben. Jedoch steigt die 14-C-Inulin-Aktivität im weiteren Versuchsverlauf kontinuierlich an (s. Abb. 9) und überschreitet sogar am Versuchsende die der Kontrollgruppe.
Geht man davon aus, daß keine Wasserbewegung vom Perfusat ins Parenchym stattgefunden hat, muß die Erhöhung der 14-C-Inulin-Konzentration im Effluat mit einer Abnahme der Liquorsekretionsrate erklärt werden.
Die vorliegenden Ergebnisse erlauben nicht zu unterscheiden, ob das veränderte 14-C-Inulin-Profil im Effluat in Gruppe III zu Perfusionsbeginn Folge eines Wassereinstroms aus dem Perfusat ins Parenchym, einer reduzierten Liquorsekretionsrate oder einer Kombination von beidem ist.

Die Veränderungen des cerebralen K^+-Gehaltes sind bei verschiedenen Hirnödemformen unterschiedlich. Die tiefe Hypothermie, die cerebrale Ischämie, das kälteinduzierte sowie das perifokale, tumorbedingte Ödem (26, 88, 141, 153) führen zu K^+-Verlusten, hingegen findet man beim DNP-Ödem z.B. (7,9) eine Zunahme des K^+-Gehaltes im Gewebe. Die Mehrheit der Autoren findet jedoch beim cytotoxischen wie vasogenen Ödem eine Abnahme des K^+-Gehaltes.
Das Hirnödem nach Bradykinin-Exposition geht ebenfalls mit einer Abnahme des cerebralen Kaliumgehaltes einher (s. Abb. 7), der in der weißen Substanz signifikant ist ($p < 0{,}05$). Eine Korrelation zwischen der cerebralen Wasseraufnahme und dem K^+-Verlust besteht nicht.

Als Ursache des Kaliumverlustes könnte ein Versagen der aktiven Pumpmechanismen und eine intrazelluläre Freisetzung durch Zellzerstörung angenommen werden. Der

nach Bradykinin-Perfusion in der weißen Substanz gefundene K^+-Verlust führte jedoch nicht zu einer Zunahme der K^+-Konzentration im cisternalen Effluat, wie z.B. die ventriculo-cisternale Perfusion mit Glutamat (102). Dieser Befund mag mit dem begrenzten Umfang der zellulären K^+-Freisetzung und mit einem Abtransport des Ions auf dem Blutweg zusammenhängen.

Zusammenfassend sind die Veränderungen der Elektrolytkonzentrationen im ödematösen Hirngewebe als K^+/Na^+-Quotient in Abb. 26 dargestellt. Kommt es im Gewebe zu einem K^+-Verlust und einer Na^+-Zunahme, sollte der K^+/Na^+-Quotient abnehmen.

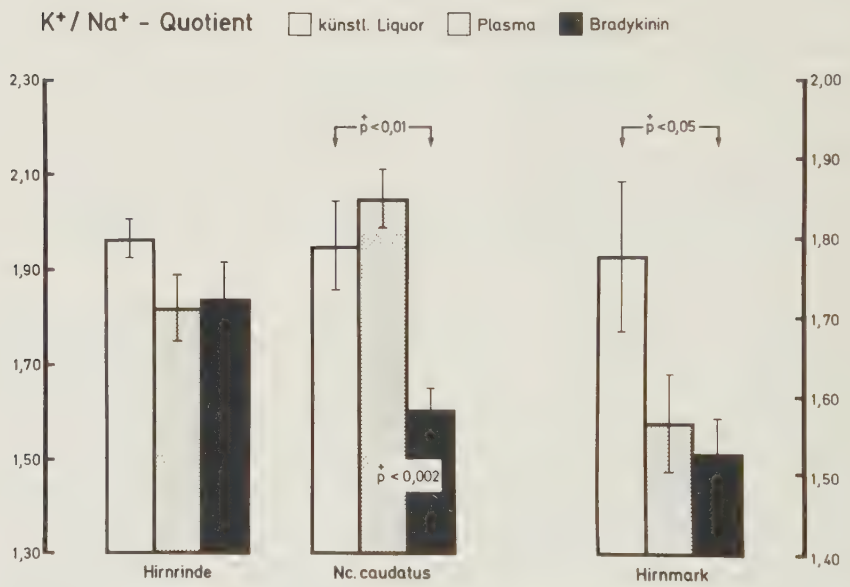

Abbildung 26: K^+/Na^+-Quotient im Hirngewebe (auf Trockengewichte bezogen) nach Perfusion mit künstlichem Liquor, Bradykinin und Plasma.

Nur der Anstieg des Hirnwassergehaltes (s.Abb.4) in den Kernarealen und im Mark (Gruppe III, Bradykinin) korreliert mit einer Abnahme des K^+/Na^+-Quotienten (Abb. 26) (Nc. caudatus: $p < 0,05$, U-Test n. WILCOXON; Mark: $p < 0,01$, U-Test n.

WILCOXON). In der Hirnrinde läßt sich diese Beobachtung nicht machen, vermutlich deshalb, weil die Zunahme des Wassergehalts nur gering ist.
Der Abfall des K^+/Na^+-Quotienten in der weißen Substanz nach Bradykinin-Perfusion beruht in erster Linie auf der Abnahme des K^+-Gehalts, in den Kernen dagegen auf dem Anstieg des Na^+-Gehalts.
Aufgrund der Elektrolytveränderungen im Parenchym ist somit eine Charakterisierung des Ödemtyps als vasogen oder cytotoxisch nicht möglich.

(2) Plasmaperfusion:

Nach der ventriculo-cisternalen Perfusion mit homologem Plasma (Gruppe II) kommt es nur in der weißen Substanz zu Veränderungen des Wasser- und Elektrolythaushaltes (vgl. Tab. 3 sowie Abb. 3, 4, 7). Der Wassergehalt der weißen Substanz ist signifikant erhöht.
Diese Lokalisation ist, was experimentelle (89, 105, 106, 164) wie klinische Untersuchungen (2, 153) bestätigen, typisch für ein vasogenes Ödem, jedoch lassen sich daraus allein keine Schlußfolgerungen über den vorliegenden Ödemtyp ziehen.

Es ist denkbar, daß das Perfusat nur in dem Gewebe zur Entwicklung eines Ödems geführt hat, mit welchem es direkt in Berührung gekommen ist. Zur Charakterisierung des Ödemtyps sind, wie bei der Perfusion mit Bradykinin keine zusätzlichen Untersuchungen vorgenommen worden.
Zwischen der Zunahme des Wasser- und Na^+-Gehaltes besteht eine statistisch gesicherte Korrelation ($p < 0{,}01$), wie aus Abb. 5 hervorgeht. Der Vergleich der Steigung der Regressionsgeraden von Wasser und Na^+ im Nc. caudatus (s. Abb. 6) mit der entsprechenden Steigung in der weißen Substanz (Abb. 5) zeigt, daß die Beziehung zwischen beiden Größen in der weißen Substanz weniger eng ist als in den Kernarealen. Dieser Befund stimmt mit Beobachtungen von OETTINGER (131) überein, der in Rinde und Mark (menschliches Biopsiematerial) unterschiedlich enge Korrelationen zwischen dem Na^+- und Wassergehalt fand. Auch REULEN, et al. (153) haben darauf aufmerksam gemacht, daß der Na^+-Gehalt der Ödemflüssigkeit der Rinde höher als der der weißen Substanz ist, wo die Ödemflüssigkeit den Charakter eines Plasmaultrafiltrats hat.

Aus Abbildung 19 geht hervor, daß die Aufnahme von Natrium aus dem Plasmaperfusat in das Gewebe geringer war als bei Kontrolltieren oder nach Perfusionen mit Bradykinin.

Es besteht kein Anhalt dafür, daß aufgrund der niedrigeren Plasmaosmolarität ($\bar{x}$=299 mosmol/l), die auch unter physiologischen Bedingungen geringfügig unter der Osmolarität des Liquor cerebrospinalis (ca. 306 mosmol/l) liegt, eine Wasserverschiebung vom Perfusat ins Hirnparenchym stattgefunden hat. Es änderten sich weder die Osmolaritäten der Plasmaeffluate (Abb. 12), noch unterschieden sich die 14-C-Inulin-Konzentrationen der Effluate von der Kontrollgruppe und der Gruppe II (Plasma).

Die Ventrikelperfusion mit Plasma veränderte den cerebralen K^+-Gehalt nicht, obgleich eine Clearance von K^+ aus der Perfusionslösung durch das Gewebe erfolgt ist (s. Abb. 20 und 21). Eine Zunahme des cerebralen K^+-Gehalts wurde in keiner der untersuchten Hirnstrukturen gefunden (Abb. 7). Es kann angenommen werden, daß aus dem Perfusat aufgenommenes Kalium aus dem Gewebe abtransportiert wurde. GOLDSTEIN, et al. (75) haben gezeigt, daß Gehirnkapillaren zum aktiven Transport von K^+-Ionen befähigt sind. Eine Erklärung für die K^+-Aufnahme aus dem Ventrikelsystem bieten Befunde von DOMER und CSERR (38, 55), KATZMAN (100) sowie BRADBURY und DAVSON (24). Hirngewebe reguliert äußerst wirksam und präzise die K^+-Konzentration seines extrazellulären Milieus auf 3,0 $\pm$ 0,1 mmol/l. KATZMAN (100) und andere Autoren zeigten, daß aktive Prozesse an der extrazellulären K^+-Homöostase beteiligt sind. In diesem Zusammenhang kommt der Beobachtung besondere Bedeutung zu, daß die K^+-Aufnahme aus dem Plasmaperfusat im Verlauf der Perfusion stetig abnimmt (Abb. 21). Dabei könnte es sich um eine, durch das Perfusat bewirkte Schädigung der aktiven Clearancemechanismen handeln. Welche spezifischen Komponenten des Perfusats hierfür verantwortlich sind, kann jedoch nicht gesagt werden. Die beschriebene Abnahme der K^+-Clearance trat bei allen Tieren der Gruppe II (Plasma) auf. Damit erscheint es unwahrscheinlich, daß eine Kininbildung, die nur bei 5 Experimenten dieser Gruppe gefunden wurde, für die Beeinträchtigung der K^+-Clearancemechanismen anzuschuldigen ist.

Nur in der weißen Substanz war nach ventriculo-cisternaler Perfusion mit Plasma der K^+/Na^+-Konzentrationsquotient verändert - ebenso wie der Wassergehalt. Ein statistisch sicherer Unterschied gegenüber Kontrollen besteht jedoch nicht. Die Abnahme des K^+/Na^+-Quotienten ist in erster Linie auf den Na^+-Einstrom (s. Abb. 4) in das Gewebe zurückzuführen und nicht auf einen Verlust von K^+-Ionen. Auch diese Befunde erlauben keine nähere Charakterisierung des Ödemtyps.

Abschließend muß auf die Unterschiede der Elektrolytgehalte beim Ödem der periventrikulären weißen Substanz hingewiesen werden. Nach Ventrikelperfusion mit Bradykinin war der Anstieg des Wassergehalts in der weißen Substanz mit einem deutlichen K^+-Verlust bei nur mäßiger Zunahme des Na^+-Gehalts verbunden. Nach Perfusion mit Plasma war der Gewebswassergehalt stärker erhöht und korrelierte enger mit dem Anstieg des Na^+-Gehalts, dagegen nicht mit einer Verringerung des K^+-Gehalts. In beiden Versuchsgruppen wurde in der weißen Substanz eine Abnahme des K^+/Na^+-Quotienten gefunden.

b) Cerebraler Energiestoffwechsel

Die Beurteilung der cerebralen Energetik erfolgte durch die Bestimmung von labilen Metaboliten (ATP, ADP, AMP, CP, Pyruvat und Lactat) in der Hirnrinde. Hinzu kamen Bestimmungen der Konzentrationen von Glukose, Lactat und Pyruvat im Perfusat vor und nach Ventrikelpassage.

Mit dem von SCHMIEDEK, et al. (163) angegebenen Gefrierstopverfahren wurden intravital Gewebeproben aus der Hirnrinde gewonnen. Die Gefrierstop-Entnahme aus der weißen Substanz oder den Kerngebieten konnte mit dieser Methode nicht durchgeführt werden.

Seit ersten Berichten von KIRSCH und LEITNER (104) über in-vitro Veränderungen von ödematösem Hirngewebe und in-vivo Untersuchungen von REULEN, et al. (153) und OLESEN (133) mit ödematösem menschlichen Hirngewebe ist von verschiedenen Untersuchern auf die Wechselbeziehung zwischen Hirnödem und Energiestoffwechsel immer wieder hingewiesen worden (88, 131, 163). Dabei steht die Stimulierung der Glykolyseaktivität (Anstieg von Lactat und des Lactat/Pyruvat-Quotienten) bei

relativ gut erhaltenen Parametern der Energetik, insbesondere der ATP-Konzentration, im Vordergrund.
Eine quasi quantitative Größe der Energetik eines biologischen Systems ist das energy charge potential (ECP), dessen Wert zwischen 0 und 1 (zwischen ATP-Verarmung und gesättigtem ATP-Gehalt) liegt. Nach Ansicht verschiedener Autoren definiert es besser die Gleichgewichtsbedingungen zwischen ATP-Synthese und -Verbrauch als die absoluten Gehalte der energiereichen Phosphatester. Der Lactat/Pyruvat-Quotient dagegen ist ein zuverlässiger Indikator für die Glykolyseaktivität, eventuell sogar für das zelluläre Redox-Potential (176).

Die in Gruppe I (Kontrollen) und II (Plasma) entnommenen Hirnrindenproben hatten ähnliche Konzentrationen labiler Metabolite (Abb. 8 und 9). Diese Befunde stimmen mit den Ergebnissen anderer Autoren (gleiche Entnahmetechnik, gleiche Bestimmungsmethoden) gut überein. SCHMIEDEK, et al. (163) fanden unter Normalbedingungen in der Hirnrinde von narkotisierten Hunden ein energy charge potential von 0,85; das ECP in Gruppe I ist 0,87, in Gruppe II 0,90. Die ATP-, ADP-, AMP-Konzentrationen und der ATP/ADP-Quotient liegen geringfügig über den Werten, welche SCHMIEDEK, et al. (163) berichtet haben, während die CP-Konzentration geringfügig darunter liegt.

In beiden Gruppen (Kontrollperfusion und Perfusion mit Plasma) war jedoch die Lactat-Konzentration wie der Lactat/Pyruvat-Quotient der Hirnrinde im Vergleich zu den Angaben anderer Autoren erheblich erhöht. SCHMIEDEK, et al. (163) fanden einen Lactat/Pyruvat-Quotienten von 4,32 $\pm$ 0,4 (n=6), der korrespondierende Wert in Gruppe I beträgt 16,4 $\pm$ 10,4 (n=5), in Gruppe II sogar 29,5 $\pm$ 20,5 (n=9).
Die Analyse der Glukosekonzentrationsunterschiede zwischen den ein- und ausströmenden Ventrikelperfusionslösungen macht die beträchtliche Aufnahme von Glukose aus dem Plasmaperfusat im Gegensatz zu den Kontrollen deutlich. Die Aufnahme von Glukose aus dem Perfusat geht mit einer stetig steigenden Abgabe von Lactat an das Perfusat einher. Pyruvat wird dagegen nicht abgegeben. Diese Beobachtung spricht dafür, daß ein großer Teil der aus dem Perfusat aufgenommenen Glukose glykolysiert wurde und nicht die Endoxydation durchlief.

Eine Stimulierung der Glykolyse ist verschiedentlich in ödematösem Hirngewebe beobachtet worden (181). Ob das Ödem selbst Ursache dieser Stoffwechseländerung ist, muß offen bleiben. Nach Ventrikelperfusion mit Bradykinin wurde keine nennenswerte Aufnahme von Glukose aus dem Perfusat beobachtet. Dieser Befund schließt jedoch eine Aktivierung der Glykolyse nicht aus. Dazu wären Bestimmungen der Lactat- und Pyruvatkonzentration im Gewebe erforderlich, welche in Versuchsgruppe III unterlassen wurden.

Die Glukoseclearance des Plasmaperfusats könnte auf ähnlichen aktiven Mechanismen beruhen wie die Kontrolle der extrazellulären K^+-Konzentration. Das Perfusat hatte mit durchschnittlich 6,2 mmol/l (=110 mg%) eine erheblich höhere Glukosekonzentration als der künstliche Liquor, dessen Konzentration im physiologischen Bereich (3,3 mmol/l =60 mg%) lag. Die Aufnahme von Glukose aus dem Plasmaperfusat in Gruppe II könnte somit als Homöostase-Mechanismus angesehen werden. Dieser Mechanismus trägt jedoch das Riskiko einer metabolischen Azidose, wie die verstärkte Bildung von Lactat im Gewebe zeigt.

c) Weitere Anhaltspunkte toxischer Mechanismen:

Bei der Beurteilung der den vorliegenden Beobachtungen zugrunde liegenden Ödemmechanismen ist der Funktionszustand der Blut-Hirn-Schranke von großer Bedeutung (107).

Von besonderem Interesse ist die Frage, ob die Ventrikelperfusion mit Plasma oder Bradykinin die Permeabilität der Hirngefäße für große Moleküle wie z.B. Plasmaproteine erhöht. Aus diesem Grunde wurde 1 Stunde nach Beginn der Perfusion mit Bradykinin bzw. Plasma, bzw. zwei Stunden vor Versuchsende, 2%iges Evans blue in einer Dosis von 2ml/kg KG intravenös injiziert. Eine grobe Permeabilitätserhöhung der Blut-Hirn-Schranke für Plasmaproteine wäre durch eine sichtbare Anfärbung des Parenchyms zu erkennen gewesen. Der makroskopische Nachweis einer Blut-Hirn-Schrankenstörung konnte in keinem Fall und in keiner Versuchsgruppe geführt werden, ein mikroskopischer Ausschluß erfolgte jedoch nicht.

Durch Bradykinin hervorgerufene Veränderungen der Gefäßpermeabilität sollen in erster Linie die postkapillären Venolen betreffen (67). Nach den Beobachtungen von HULTSTRÖM und SVENSJÖ (90, 183) führt die Applikation von 1 µg Bradykinin bei Gefäßen der Backentasche von Hamstern zur Eröffnung von interzellulären Endothellücken bis zu 4 µm, die wahrscheinlich auf Kontraktionen von Zellelementen beruht. Die Lückenbildung ist reversibel und dauert ca. 20-30 Minuten (147). Da die Ödembildung in der Peripherie jedoch fortschreitet, postulieren JOYNER, et al. (96) einen gesteigerten, vesikulären Transport (Pinozytose) durch die Endothelzellen. Befunde von SCHWARTZ und COTRAN (165) zeigen, daß nicht alle Gefäßgebiete auf Bradykinin gleichartig reagieren. Die Autoren erzeugten mit Bradykinin in periureteralen und pericystischen Gefäßen eine erhöhte Durchlässigkeit für Tusche-Partikel, nicht jedoch in Nierengefäßen.

Die eigenen Untersuchungen lassen vorläufig den Schluß zu, daß die Perfusion mit Plasma oder Bradykinin die Permeabilität der Hirngefäße - zumindestens für großmolekulare Substanzen, wie den Evans blue-Albumin-Komplex mit einem Molekulargewicht von ca. 60.000 - nicht verändert hat.
Die Wassereinlagerung in die periventrikuläre, weiße Substanz nach Perfusion mit Plasma oder in die graue Substanz der Hirnrinde und der Basalganglien nach Perfusion mit Bradykinin muß daher auf anderen, wahrscheinlich cytotoxischen Mechanismen beruhen.

Als Hinweise für eine zytotoxische Wirkung von Plasma oder Bradykinin könnten die Liberierung von Lactatdehydrogenase (LDH) und/oder Glutamat in das Perfusat angesehen werden.
Lactatdehydrogenase (LDH) ist ein im Zytosol lokalisiertes Enzym, dessen Nachweis in extrazellulären Flüssigkeiten, wie z.B. Serum oder Liquor als Hinweis für eine Zellschädigung angesehen wird. In Erythrozyten werden ca. 170 U/10^{11} Zellen (54), im Gehirn 40-55 U/g Gewebe gefunden (54). Die LDH-Aktivität im Plasmaperfusat vor Perfusion war 30-40 mU/ml. Bei der Bewertung einer erhöhten LDH-Aktivität muß auch an den Austritt des Enzyms aus Erythrozyten durch Hämolyse gedacht werden.

Wie aus Abb. 16 hervorgeht, war eine Liberierung des Enzyms weder nach Plasma- noch nach Bradykininperfusion zu beobachten, von Einzelfällen abgesehen, die auf hämolytischen Beimengungen beruhten.

Ähnlich verhält es sich mit der im ZNS fast ausschließlich intrazellulär lokalisierten (15-18 mM) Aminosäure Glutamat (Abb. 17), die bei nekrotischem Gewebezerfall freigesetzt werden kann. Glutamat wirkt im ZNS cytotoxisch (3, 102, 159, 192) und ist somit ein idealer Kandidat als Mediator des sekundären Parenchymschadens nach primärem Insult.
Unter physiologischen Bedingungen tragen aktive Uptake-Mechanismen dafür Sorge, daß die extrazelluläre Glutamatkonzentration Schwellenwerte von 10-20 µmol/l nicht überschreitet (80). Für Glutamat besteht ein intra-/extrazelluläres Konzentrationsverhältnis von ca. 1000:1. Der entsprechende Konzentrationsquotient für K^+-Ionen ist nur ca. 50:1.

Die in Gruppe II (Plasma) bei 11 von 13 Tieren beobachtete Clearance von Glutamat aus dem Perfusat nimmt im Verlauf der Perfusion im Gegensatz zur K^+-Clearance nicht ab. Dieser Befund könnte als ein Hinweis für aktive Homöostase-Mechanismen angesehen werden.
Immerhin wurde in 2 Versuchen der Gruppe II (Plasma), bei welchen der Wassergehalt in der periventrikulären weißen Substanz am höchsten war (70,7 und 69,5 ml/100g FG), eine beträchtliche Freisetzung von Glutamat an das Effluat gefunden (Abb. 18). Da in beiden Versuchen keine nennenswerten Beimengungen von Blut oder Erhöhungen der LDH-Aktivität vorlagen, kann ein Artefakt als Ursache für die Glutamatliberierung ausgeschlossen werden.
Die Einzelbeobachtungen sprechen dafür, daß Zerstörungen von Zellen im periventrikulären Gewebe zur Abgabe von Glutamat an die Perfusionslösung geführt haben. Die Frage, ob und wie die in diesen Experimenten gefundene, besonders intensive Wassereinlagerung in das Gewebe mit der Glutamatliberierung zusammenhängt, kann nicht beantwortet werden.

Eine Schädigung von Hirngewebe kann auch durch einen Anstieg des intrakraniellen bzw. des Perfusionsdruckes bewirkt werden.

Eine Erhöhung des Perfusionsdrucks während der Ventrikelperfusion könnte durch Zunahme des Perfusionswiderstandes, z.B. durch eine Verengung der Passage durch das Ventrikelsystem hervorgerufen werden. Verschiedene Ursachen könnten dafür verantwortlich sein. Ein Zuschwellen enger Abschnitte des Passagewegs, z.B. der Foramina Monroi und der Verbindung vom 3. zum 4. Ventrikel durch ein Ödem der periventrikulären weißen Substanz, wäre denkbar.
In Gruppe II (Plasma) wie in Gruppe III (Bradykinin) wurde ein Ödem der weißen Substanz gefunden. Zu gehäuften und z.T. nicht beherrschbaren Anstiegen des Perfusionsdruckes kam es jedoch nur bei Perfusionen mit Plasma (Abb. 2), wenn auch nicht so häufig wie in entsprechenden Versuchen von OETTINGER (11) bei Ratten. Bei den Versuchstieren der Gruppe II, wo Steigerungen des Perfusionsdruckes auftraten, war der Anstieg des Wassergehalts im Mark keineswegs am stärksten. Umgekehrt hatten die Tiere mit besonders ausgeprägter Wassereinlagerung in die weiße Substanz (Gruppe II, Bradykinin) so gut wie keinen Anstieg des Perfusionsdruckes. Das bedeutet, daß die Erhöhungen des Perfusionsdruckes in der mit Plasma perfundierten Versuchsgruppe nicht allein durch das periventrikuläre Ödem erklärt werden können. Die Verengung des Passageweges mußte einen anderen Grund haben. Der Ablauf von Gerinnungsprozessen im Plasmaperfusat mit Ablagerung kleiner Fibringerinnsel in engen Passageabschnitten erscheint eine plausible Erklärung zu sein. Bestimmungen der Fibrinogenkonzentration zur Klärung dieser Frage wurden jedoch nicht vorgenommen.
Das im Vergleich zu den Beobachtungen von OETTINGER (11) relativ seltene Auftreten von intrakraniellen Drucksteigerungen in diesen Versuchen mag daran liegen, daß die Liquorabflußwege der Versuchstiere erheblich weitlumiger waren.
Eine Schädigung des Hirngewebes allein durch den Anstieg des Perfusionsdruckes (maximal 40 mmHg) ist zwar nicht auszuschließen, jedoch wenig wahrscheinlich. Kritische cerebrale Perfusionsdrucke, welche zur Verminderung der Hirndurchblutung geführt hätten, wurden nie erreicht. Dafür sprechen auch die Metabolitmuster der labilen, energiereichen Phosphatester im Hirngewebe.

Eine spezifische, durch Bradykinin induzierte Wirkung, die als Ausdruck einer funktionellen Reaktion betrachtet werden könnte, ist die Senkung der Liquorsekretionsrate (Abb. 10a).

Sowohl in der Kontrollgruppe wie nach Perfusion mit Plasma kam es erst im Verlauf des Versuchs zu einem Abfall der Liquorproduktionsrate - bei Kontrollen von 84,1 µl/min (30 Min.) auf 43,1 µl/min (180 Min.). Nach Perfusion mit Bradykinin kam es dagegen sofort (30 Min.) zu einer Abnahme der Liquorproduktion auf 18,7 µl/min. Nach 60 Min. erreichte die Liquorproduktion wieder den Kontrollbereich und stieg gegen Versuchsende auf 73,9 µl/min. an. Es stellt sich damit die Frage nach der Ursache der Sekretionshemmung.

Der Plexus chorioideus (196), das ventrikuläre Ependym (41) und das Hirnparenchym selbst (125) sind Entstehungsorte des Liquor cerebrospinalis. Das im Perfusat gelöste Bradykinin war während der Perfusion in direktem Kontakt mit diesen Strukturen.
Liquor ist kein Plasmaultrafiltrat, sondern das Produkt aktiver Sekretionsmechanismen des Plexus und des Ventrikelparenchyms. Dafür sprechen eine Reihe von Versuchsergebnissen, z.B. die Beobachtung, daß Ouabain die Liquorbildung hemmt (38, 194).
Die initiale Hemmung der Liquorproduktion durch Bradykinin könnte verschiedene Ursachen haben:

1. Bradykinin senkt den Filtrationsdruck durch Kontraktion der Arteriolen im Plexus chorioideus und im ependymalen Gewebe.
   Diese Annahme wird durch Untersuchungen von TODA (188) gestützt, der in-vitro fand, daß Bradykinin Streifenpräparate der Aa. carotis externae et internae und intracerebraler Arterien des Hundes kontrahiert.
   Gegen diese Annahme sprechen Befunde von WAHL (195), der bei Katzen in-vivo eine dilatierende Wirkung von Bradykinin auf Pia-Arterien feststellen konnte.

2. Bradykinin hemmt aktive Sekretionsmechanismen des Plexus-Endothels und der Ependymzellen, z.B. durch Inhibition der Na^+/K^+-ATPase.
   ZELCK, et al. (203) konnten zeigen, daß Bradykinin die ATP-abhängige Calciumaufnahme in die Mikrosomenfraktion von Schweinekoronarien hemmt.

Die durch eine Bradykinindosis von 1234-4165 ng/ml erzielte Hemmung der Liquorproduktion war indes immer reversibel. Die Inhibition wich nach spätestens 90 Min. einer verstärkten Liquorproduktion. Dieser Befund spricht am ehesten für eine kontrahierende Wirkung des Bradykinins auf Plexus- und Hirngefäße, welche mit der Zeit durch Tachyphylaxie und/oder gegenregulatorische Mechanismen überspielt wurde.

5. Rolle des KKK-Systems für die Entstehung des Hirnödems nach Ventrikelperfusion mit Plasma:

Die Frage ist von Bedeutung, welche Effekte bei der ventriculo-cisternalen Perfusion mit Plasma auf die Aktivierung des KKK-Systems zurückzuführen sind, und ob bzw. welche andere Komponenten im Plasma für die pathophysiologischen Veränderungen in diesen Präparationen verantwortlich sind.

Der Vergleich von Plasmaperfusion mit Bradykininperfusion ermöglicht die Differenzierung zwischen kinin-abhängigen, i.e. spezifischen und -unabhängigen (unspezifischen) Effekten. Ein weiteres Argument für die Spezifität der Befunde ist die in einigen Plasmaperfusionsversuchen gefundene Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Menge freigesetzter Kinine und dem Umfang des Ödems in der weißen Substanz. Diese Aussage wird jedoch dadurch eingeschränkt, daß es nicht in allen Fällen zur Bildung von Kininen gekommen ist.

In den 5 von 9 Versuchen mit Aktivierung des KKK-Systems war die Kininbildung durchschnittlich 520 ng/min. Das Maximum lag bei 1100 ng/min. In der Gruppe III (Bradykinin) war die Konzentration des Peptids 1200 bis 4100 ng/ml, im Mittel 2400 ng/ml. Dies entspricht der 4-5fachen Kininmenge, die in den 5 Experimenten mit Aktivierung des Systems nach Perfusion mit Plasma freigesetzt wurde. In den Versuchen mit Plasmaperfusion überschritt die Kininliberierung jedoch nicht die Inaktivierungskapazität der cerebralen Kininasen, die, wie die eigenen Befunde zeigen (s. Abb. 24), bei 1500 bis 1900 ng Bradykinin/min lag.

Der Vergleich des Effektes der unterschiedlichen Kininkonzentrationen in beiden Versuchsgruppen kann daher nur qualitativ sein.

Die Perfusion mit Bradykinin führte zu einem Anstieg des Wassergehalts in allen Hirnarealen (Rinde, Kerne, Mark), im Mark zu einem Verlust von K^+, im Nc. caudatus zu einem Verlust von Na^+ und K^+. Eine Beziehung zwischen der Kininkonzentration im Perfusat, bzw. der effektiven Konzentration, welche im Effluat gefunden wurde, und der Erhöhung des Wassergehalts bestand jedoch nicht. Das liegt wahrscheinlich daran, daß die Kininkonzentrationen im Perfusat oberhalb eines Dosis-Wirkungs-Bereichs lagen.

Das Hirnödem nach Ventrikelperfusion mit Plasma war auf die weiße Substanz beschränkt. Die Zunahme des H_2O-Gehalts im Gewebe korreliert mit einem Anstieg des Na^+-Gehalts. Da die intravenöse Injektion von Evans blue weder bei Ventrikelperfusion mit Plasma noch mit Bradykinin zur Anfärbung des ödematösen Hirngewebes geführt hat, muß angenommen werden, daß eher cytotoxische als vasogene Mechanismen für die Ödementstehung verantwortlich zu machen sind.
Obwohl bei der Ventrikelperfusion mit Plasma die effektive Kininkonzentration, d.h. die Kininliberierung, geringer war als die bei Perfusion mit Bradykinin verwendete Peptidmenge, übertrifft der Anstieg des Wassergehalts in der weißen Substanz in Gruppe II die Wassereinlagerung nach Perfusion mit Bradykinin (s. Tab. 3 und Abb. 3).
Es stellt sich deshalb die Frage, ob das Hirnödem in der weißen Substanz nach Perfusion mit Plasma überhaupt durch Kinine bewirkt wurde. Zu ihrer Klärung wurde eine Regressionsanalyse zwischen der Zunahme des Wassergehalts in der weißen Substanz und der Kininfreisetzung durchgeführt. Die Korrelationsberechnung konnte nur mit 4 Experimenten durchgeführt werden, weil in einem Versuch mit Kininliberierung die Bestimmung des Wassergehalts im Gewebe fehlerhaft war.
Um quantitativ vergleichbare Werte zur Berechnung der Kininfreisetzung zu erhalten, wurde der Verbrauch von Kininogen vor und nach Ventrikelpassage nach folgendem Integral berechnet:

$$\int_{t=0}^{t=180} \left(1 - \frac{P_{eff}}{P_{in}} \right) \cdot 100$$

wobei P_{in} die Kininogenkonzentration des Plasmas in ng (freisetzbares Bradykinin)/ml der einströmenden und P_{eff} der ausströmenden Perfusionslösung bedeuten. Die errechneten Zahlen ergeben dimensionslose Werte.
Diese Zahlen wurden in Abb. 27 gegen den H_2O-Gehalt der weißen Substanz dieser Versuche (Gruppe II) aufgetragen.

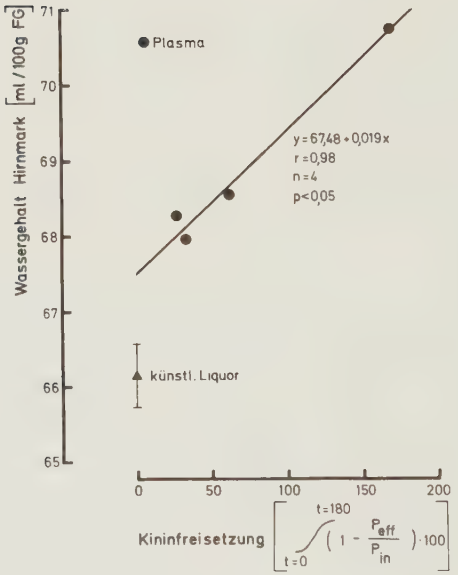

Abbildung 27: Regressionsanalyse von Wassergehalt im Hirnmark und Kininfreisetzung bei 4 Versuchen der Gruppe II (Plasma)

Die Regressionsgerade

$$y=67,48+0,019x$$

hat einen Korrelationskoeffizienten von r=0,98 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von <5%.

Unter dem Vorbehalt, daß nur wenige Experimente für diese Analyse zur Verfügung standen, läßt das Ergebnis die Schlußfolgerung zu, daß eine Beziehung zwischen der Wassereinlagerung und der Freisetzung von Kininen vorliegt.
Diese Analyse enthält eine weitere interessante Information. Die Regressionsgerade schneidet die Y-Achse (d.h. Kininfreisetzung=0) bei einem Wassergehaltswert von 67,48 ml/100 g FG. Das bedeutet, daß in den Versuchen der Gruppe II, wo keine Liberierung von Kininen stattfand, es auch zu einem Anstieg des Wassergehaltes im Gewebe um ca. 1,3 ml/100 g FG gekommen sein muß. Der H_2O-Gehalt der weißen Substanz war in den Versuchen mit Kininliberierung 68,9 $\pm$ 1,3 ml/100 FG, ohne Aktivierung des KKK-Systems hingegen 66,9 $\pm$ 2,1 ml/100 g FG. Demnach war auch ohne Aktivierung des KKK-Systems der Wassergehalt in der weißen Substanz nach Plasmaperfusion im Vergleich zu den Kontrolltieren (66,17 $\pm$ 1,04 ml/100 FG) erhöht. Dies konnte jedoch aufgrund der geringen Versuchszahl statistisch nicht abgesichert werden. Aus der Regressionsgerade kann weiter abgeleitet werden, daß eine Kininbildung von ca. 200 ng/min den Wassergehalt im Gewebe um 1 ml/100 g FG erhöht haben muß.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß ein Zusammenhang zwischen der Wassereinlagerung in die weiße Substanz und der Aktivierung des KKK-Systems nicht ausgeschlossen werden kann.
Weitere Prozesse, die vermutlich mit der Entstehung des Ödems in irgendeiner Form zusammenhängen, sind die Steigerung des intrakraniellen Druckes während der Perfusion, die Stimulierung der Glykolyse und erhöhte Aufnahme von Glucose ins Hirngewebe, die Abnahme der Leistungsfähigkeit der K^+-Clearance bei erhöhter extrazellulärer Belastung und die Freisetzung von Glutamat aus dem Hirngewebe in einigen Fällen. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß die Kininliberierung an diesen Phänomenen beteiligt ist.

Der relativ geringe Umfang der Kininbildung und ihr begrenztes Vorkommen bei der Perfusion mögen Plasma mag Ursache dafür gewesen sein, daß kein Anstieg des H_2O-Gehaltes in Kernarealen und Rinde zu beobachten war, daß die Elektrolytveränderungen im Gewebe sich von den Veränderungen nach Bradykininperfusion unterschieden, und daß die Liquorproduktion im Vergleich zur Perfusion mit Bradykinin weitgehend unverändert blieb. Unter Umständen gelangte das Bradykinin-Perfusat (Gruppe III) aufgrund seiner geringeren Viskosität tiefer als das Plasmaperfusat in den Extrazellulärraum des periventrikulären Parenchyms, eventuell sogar in den Subarachnoidalraum. Dadurch könnte die Entstehung eines Ödems in ventrikelfernen Arealen, z.B. der Hirnrinde, erklärt werden.

6. Schlußfolgerungen und Ausblick

Der Nachweis einer Mediatorfunktion eines Plasma- oder Gewebsfaktors beim Hirnödem erfordert u.a., daß dessen cerebrale Applikation oder Freisetzung im ZNS zum Hirnödem führt.
Die Ventrikelperfusion mit Plasma induziert ein Hirnödem in der periventrikulären weißen Substanz. Die Frage muß jedoch offen bleiben, ob die Aktivierung des KKK-Systems von ursächlicher Bedeutung oder ein Epiphänomen ist - auch wenn in einigen Fällen ein enger Bezug zwischen Ödembildung und Aktivierung des Systems gefunden wurde.

Weil Plasma ein kaum definierbares Gemisch unzähliger Substanzen, wie Proteinen, Peptiden, Aminosäuren, Elektrolyten, Metaboliten, Spurenelementen etc. ist, lassen die vorliegenden Ergebnisse nur den Schluß zu, daß sein direkter Kontakt mit dem Hirnparenchym zum Ödem führt - nicht mehr, aber auch nicht weniger. Diese Aussage ist wichtig genug. Die Ventrikelperfusion mit Plasma zur Umgehung der Blut-Hirn-Schranke imitiert in bestimmter Weise das Eindringen der vasogenen Ödemflüssigkeit aus einem fokalen Bezirk in das perifokale Parenchym. Unter diesen Bedingungen kommt es ebenso zur direkten Berührung von Zellen des Hirnparenchyms mit Plasma bzw. seinen Bestandteilen. Die vorliegenden Ergebnisse sind ein eindeutiger Hinweis dafür, daß bereits die Veränderungen des cerebralen Extra-

zellulärraums durch Überfluten mit Plasma als ein ernst zu nehmender, pathophysiologischer Mechanismus für die Ödementstehung angesehen werden muß, auch wenn die in Frage kommenden Mediatoren noch nicht klar identifiziert sind. Die Erzeugung eines Ödems durch Ventrikelperfusion mit dem aktiven Peptid des KKK-Systems, kann als Hinweis angesehen werden, daß das System als Mediator infrage kommt.
Aus diesen Ergebnissen und Interpretationen läßt sich als Konzept ein Verstärkungsmechanismus bei der Entstehung und Ausbreitung des vasogenen Hirnödems entwickeln. Der primäre Insult (Trauma, Infarkt) führt durch die Bildung einer fokalen Nekrose mit Eröffnung der Blut-Hirn-Schranke zum Einbruch der vasogenen Ödemflüssigkeit in das Hirnparenchym. Die spezifische Wirkung der Ödemflüssigkeit im Fokus und im perifokalen Parenchym verstärkt die Wassereinlagerung, z.B. durch Vergrößerung des Blut-Hirn-Schrankendefektes, und führt sekundär zur Schwellung von Nerven- und Gliazellen. Das primäre vasogene Ödem wird damit Ursache der sekundär cytotoxischen Zellschwellungen. Es ist denkbar, daß Mediatoren auch in den Prozeß der sekundären Nekrosebildung verwickelt sind.

Dieses Konzept findet eine ausgezeichnete Unterstützung in der Beobachtung, daß die Wassereinlagerung in der periventrikulären weißen Substanz nach Perfusion mit Plasma oder das Ödem der grauen Substanz in Rinde oder Basalganglien nach Perfusion mit Bradykinin wahrscheinlich intrazellulär ist, wie die Untersuchungen der Blut-Hirn-Schranken-Durchlässigkeit mit Evans blue zeigten.
Ein weiteres Argument ist die als Tendenz erkennbare Beziehung zwischen Wasseraufnahme in das Gewebe und Bildung von Kininen bei Perfusion mit Plasma. Nach Sicherung dieser Beobachtung wäre ein weiteres Kriterium erfüllt, welches das KKK-System als Mediator identifiziert.

Mit der Erörterung des Standortes der Forschung über das KKK-System als Mediator sekundärer, pathophysiologischer Prozesse im ZNS, besonders des Hirnödems, ist die Frage aufgeworfen, welche Richtung die zukünftige wissenschaftliche Auseinandersetzung nehmen muß und welche klinischen Konsequenzen sich ergeben. Zur Vertiefung des Verständnisses über die beteiligten Pathomechanismen müssen verschiedene Aspekte Berücksichtigung finden, z.B. die Natur und Lokalisation

des Bradykinin-Ödems, Mechanismen der Ödembildung, z.B. Funktion der Blut-Hirn-Schranke und der Mikrozirkulation. In diesen Zusammenhang gehört auch die Frage, ob der Mediator unter entsprechenden Bedingungen, die zum vasogenen Ödem führen, tatsächlich gebildet wird, und wenn ja, ob in wirksamen Konzentrationen.

Dieser Punkt könnte im Versuchsmodell der Kälteläsion der Hirnrinde untersucht werden. Wird unter solchen Bedingungen tatsächlich einer Aktivierung des KKK-Systems gefunden, ist der Versuch einer pharmakologischen Beeinflussung oder Inhibition der nächste sich zwangsläufig ergebende Schritt.
Die Hemmung des Systems durch spezifische Inhibitoren zusammen mit einer klinisch relevanten Abschwächung oder gar Verhinderung der Entwicklung des vasogenen Hirnödems und anderer Sekundärschäden würde den endgültigen Beweis für seine Rolle als Mediator liefern. Die gezielte Beeinflussung spezifischer Ödemmechanismen sollte darüberhinaus die Wirksamkeit der Therapie verbessern.

E. ZUSAMMENFASSUNG

In experimentellen Untersuchungen mit Hunden ist die Hypothese geprüft worden, ob das Kallikrein-Kininogen-Kinin-System (KKK-System) ein Mediator des vasogenen Hirnödems ist.
Als Versuchsodell diente die ventriculo-cisternale Perfusion mit homologem Plasma oder Bradykinin. Die Versuche wurden mit folgender Fragestellung durchgeführt:

(a) Führt die ventriculo-cisternale Perfusion des Gehirns mit homologem Plasma bzw. Bradykinin zur Entwicklung eines Hirnödems und, wenn ja, in welchen Arealen ist das Ödem lokalisiert?
(b) Kommt es bei der Perfusion mit Plasma zur Bildung von Kininen?
(c) Besteht eine Beziehung zwischen der Kininkonzentration im Perfusat und der Einlagerung von Wasser in das Hirngewebe?
(d) Welche anderen pathophysiologischen Wirkungen werden durch die cerebrale Applikation von Plasma oder Bradykinin hervorgerufen?

Die Ventrikelperfusion mit Bradykinin führt zum Ödem der Hirnrinde, des Nc. caudatus und der weißen Substanz. Die Erhöhung des Wassergehalts geht in verschiedenen Hirngewebsarealen mit Veränderungen des Na^+- und K^+-Gehaltes einher. Die Perfusion mit Bradykinin führt initial zu einer reversiblen Hemmung der Liquorsekretion. Periventrikuläres Hirngewebe besitzt eine enorme Kininase-Aktivität, pro Minute werden 1600 ng Bradykinin durch das Gehirn aus dem Perfusat eliminiert.

Die Perfusionen mit homologem Plasma (Gruppe II) erzeugten ein Ödem in der periventrikulären weißen Substanz, dagegen nicht im Nc. caudatus oder in der Hirnrinde. In 6 von 13 Versuchen kam es während der Perfusion zu einem Anstieg des Perfusionsdruckes (i.e. des intrakraniellen Druckes). Weitere Anhaltspunkte für potentiell schädigende Wirkungen der Plasmaexposition sind die Stimulierung der Glykolyse, die Freisetzung von Glutamat in einzelnen Versuchen und die Einschränkung der K^+-Clearance-Kapazität des Hirnparenchyms.

Eine Bildung von Kininen wurde in 5 von 9 Versuchen beobachtet. In diesen Versuchen wurde eine Dosis-Wirkungs-Beziehung zwischen der Bildung von Kininen und dem Anstieg des Wassergehalts in der periventrikulären weißen Substanz gefunden. Hinweise für eine Schädigung der Blut-Hirn-Schranke ergaben sich dagegen nicht.

Aus den Ergebnissen können folgende Schlüsse gezogen werden:

1. Das durch Bradykinin induzierte Hirnödem ist wahrscheinlich intrazellulär lokalisiert, d.h. cytotoxischer Natur. Das in den Extrazellulärraum des Gehirns eingebrachte Bradykinin kann schnell und in großem Umfang inaktiviert werden.
2. Die unmittelbare Berühung von Plasma mit periventrikulärem Hirngewebe führt zu einem Hirnödem der weißen Substanz. Aus den vorliegenden Untersuchungen kann jedoch nur z.T. beantwortet werden, welche Komponenten im Plasma die Entwicklung des Ödems hervorrufen. Für die Beteiligung des Kallikrein-Kinin Systems spricht die Tatsache, daß die im Falle der Kininbildung freigesetzten Kinine mit dem Umfang des Ödems korrelieren. Andere im Plasma vorhandene neurotoxische Faktoren könnten in den Fällen für die Entwicklung des Ödems verantwortlich gewesen sein, wo keine Aktivierung des KKK-Systems erfolgt ist.

Aus den vorliegenden Ergebnissen muß gefolgert werden, daß unabhängig von der intrakraniellen Raumforderung das Eindringen von vasogener Ödemflüssigkeit in das Hirnparenchym, ihr direkter Kontakt mit Nerven- und Gliazellen ein effektives Schädigungspotential hat. Die Ergebnisse zeigen darüberhinaus, daß eine Aktivierung des KKK-Systems zu diesem Potential beiträgt. Weitere Untersuchungen müssen klären, ob das Kallikrein-Kinin-System tatsächlich bei neuropathologischen Prozessen, z.B. einem fokalen traumatischen oder ischämischen Insult, die mit einem vasogenen Hirnödem einhergehen, eine Rolle spielt.
Eine Bestätigung dieses Konzeptes ist nicht nur von großem wissenschaftlichen Interesse, sondern wäre für das therapeutische Vorgehen in der Praxis von unübersehbarem Nutzen.

F. LITERATURVERZEICHNIS:

1. Aleu,F.P., Katzman,R., Terry,R.D.:
Fine structure and electrolyte analysis of cerebral edema induced by alkyl tin intoxication.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 22:403-413, 1963

2. Aleu,F., Samuels,S., Ransohoff,J.:
The pathology of cerebral edema associated with gliomas in man.
Amer. J. Pathology 48:1043-1061, 1966

3. Ames, A., III, Tsukada, Y., Nesbett, F.B.:
Intracellular Cl^-, Na^+, K^+, Ca^{2+}, Mg^{2+} and P in nervous tissue, response to glutamate and to changes in extracellular calcium.
J. Neurochem. 14:145-159, 1967

4. Armstrong,D., Mills,G.L., Sicuteri,F.:
Physiological influence on the liberation of human plasma kinin at low temperatures.
in: Erdös,E.G., Back,N., Sicuteri,F. (Eds.): Hypotensive Peptides.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 139-147, 1965

5. Armstrong,D.:
The effects of temperature on the response of human plasma kinin-forming system to promoting and inhibiting agents.
Brit.J. Pharmacol. 34:670-671, 1968

6. Atkinson,D.E.:
The energy charge of the adenylate pool as a regulatory parameter. Interaction with feedback modifiers.
Biochemistry 7:4030-4034, 1968

7. Baethmann,A.:
Die Störung des Kationentransportes beim Hirnödem.
Inauguraldissertation, München, 1968

8. Baethmann,A., Steude,U., Horsch,S., Brendel,W.:
The thiosulphate (^{35}S) space in the CNS of rats after ventriculo-cisternal perfusion.
Pflüg. Arch. Europ. J. Physiol., 316:51-63, 1970

9. Baethmann,A.:
Das metabolische Hirnödem.
Habilitationsschrift, München, 1974

10. Baethmann,A., Oettinger,W., Rothenfußer,W., Geiger,R.:
Biochemical aspects of cerebral edema.
in: Mrsulja,B.B., Rakic,L.M., Klatzo,I., Spatz,M. (Eds.): Pathophysiology of Cerebral Energy Metabolism. Plenum Publishing Corp., New York: 189-209, 1979

11. Baethmann,A., Oettinger,W., Rothenfußer,W., Kempski,O., Unterberg,A.:
CSF-pressure of rats during ventriculo-cisternal perfusion with potential brain edema factors.
in: Shulman,K., Marmarou,A., Miller,J.D., Becker,D.P., Hochwald,G.M., Brock,M. (Eds.): Intracranial Pressure IV. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 291-297, 1980

12. Baethmann,A., Oettinger,W., Rothenfußer,W., Kempski,O., Unterberg,A., Geiger,R.:
Brain Edema Factors. Current state with particular reference to plasma constituents and glutamate.
in: Cervos-Navarro,J., Ferszt,R. (Eds.): Brain Edema. Advanc. in Neurol., 28, Raven Press, New York: 171-195, 1980

13. Ben-Schmuel,A.:
Elektronenmikroskopische Untersuchungen über das im Marklager lokalisierte Hirnödem.
Z.Zellforsch. 64:523-532, 1964

14. Benson,V.M., McLaurin,R.L., Faulkes,E.C.:
Traumatic cerebral edema.
Arch. Neurol. 23:179-186, 1970

15. Beretta,A.A., Feruglio,F.S., Campus,S., Chiandussi,L., Pandolfo,P., Bert,G.:
The effect of eledoisin and bradykinin in the general and visceral circulation.
in: Erdös,E.G., Back,N., Sicuteri,F. (Eds.): Hypotensive Peptides. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 430-440,1966

16. Bergmeyer, H.U., Bernt,E., Schmidt,F., Stork,H.:
D-Glucose.
in: Bergmeyer,H.U.(Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim /Bergstr.: 1163-1168, 1970

17. Bergmeyer,H.U., Bernt,E.:
Lactatdehydrogenase.
in: Bergmeyer,H.U.(Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim /Bergstr.: 533-538, 1970

18. Bering,E.A.,Jr., Sato,O.:
Hydrocephalus: Changes in formation and absorption of cerebrospinal fluid within the cerebral ventricles.
J. Neurosurg.20: 1050-1063, 1963

19. Bernt,E., Bergmeyer,H.U.:
L-Glutamat.
in: Bergmeyer,H.U.(Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim /Bergstr.: 1659-1663, 1970

20. Bingham,W.G., Paul,S.E., Sastry,K.S.S.:
Effects of cold injury on six enzymes in rat brain.
Neurology 21:649-660, 1969

21. Bito,L.Z., Davson,H.:
Local variations in cerebrospinal fluid composition and its relationship to the composition of the extracellular fluid of the cortex.
Exp. Neurol. 14:264-280, 1966

22. Blasberg,R.G.:
Clearance of serum albumin from brain extracellular fluid: A possible role in cerebral edema.
in: Pappius,H.M., Feindel,W.(Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 98-102, 1976

23. Blümel,G.:
Über die mögliche Beteiligung des Kininsystems bei einem chirurgischen Zustandsbild.
in: Haberland,G.L., Matis,P.(Eds.): Neue Aspekte der Trasylol-Therapie, 3, Schattauer, Stuttgart-New York: 125-130, 1969

24. Bradbury,M.W.B., Davson,H.:
The transport of potassium between blood, cerebrospinal fluid and brain.
J. Physiol. (London) 181:151-174, 1965

25. Braszko,J., Koscielak,M.:
Effects of kinins on the central action of serotonin.
Pol.J.Pharmacol. Pharm. 27 Suppl.: 61-68, 1975

26. Brendel,W., Reulen,H.J.:
Die Kälteschwellung des Gehirns.
Langenbeck`s Arch. Klin. Chir. 308:903-907, 1964

27. Bulle,H.P.:
Effects of reserpine and chlorpromazin in prevention of cerebral edema and reversible cell damage.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 94:553-556, 1957

28. Camargo,A.C.M., Ramalho-Pinto,F.J., Greene,L.J.:
Brain peptidases: conversion and inactivation of kinin hormones.
J. Neurochem. 19: 37-49, 1972

29. Carpi,A., Corrado,A.P.:
Cerebral vascular action of bradykinin in the dog.
Experientia 17:326-327, 1961

30. Chan,J.Y.C., Burrowes,C.E., Habal,F.M., Movat,H.Z.:
The inhibition of activated factor XII (Hageman factor) by antithrombin III; the effect of other plasma proteinase inhibitors.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 74:150-158, 1977

31. Chan,P.H., Fishman,R.A.:
Brain Edema: Induction in cortical slices by polyunsaturated fatty acids.
Science 201:358-360, 1978

32. Chapman,L.F., Wolff,H.G.:
Studies of proteolytic enzymes in cerebrospinal fluid.
Arch. Int.Med. 103:86-94, 1959

33. Clark, W.G.:
Kinins and the peripheral and central nervous system.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Exp. Pharmacol., XXV Suppl., Springer, Berlin - Heidelberg - New York: 311-356, 1979

34. Clasen,R.A., Sky-Peck,H.H., Pandolfi,S.,Laing,I., Hass,G.M.:
The chemistry of isolated edema fluid in experimental cerebral injury.
in: Klatzo,I., Seitelberger,F.(Eds.): Brain Edema. Springer,Wien: 536-556, 1967

35. Clendendon,N.R., Allen,N.,Ito,T., Gordon,M.T., Yashan,D.:
Response of lysosomal hydrolases of dog spinal cord and cerebrospinal fluid to experimental trauma.
Neurology 28:78-84, 1978

36. Cochrane,C.G., Revak,S.D., Wuepper,K.D.:
Activation of Hageman factor in solid and fluid phases. A critical role of kallikrein.
J. Exp. Med. 138(2):1564-1583, 1973

37. Cornog,J.L.Jr., Gonatas,N.K., Feiermann,J.R.:
Effects of intracerebral injection of ouabain on the fine structure of rat cerebral cortex.
Amer. J.Path. 51:572-590, 1967

38. Cserr,H.:
Potassium exchange between cerebrospinal fluid, plasma and brain.
Amer. J. Physiol. 209:1219-1226, 1965

39. Cserr,H.F., Cooper,D.N., Milhorat,T.H.:
Flow of cerebral interstitial fluid as indicated by the removal of extracellular markers from rat caudate nucleus.
in: Bito,L.Z., Davson,H., Fenstermacher,J.D.: The Ocular and Cerebrospinal Fluids. Academic Press, London-New York-San Francisco: 461-473, 1978

40. Cuparencu,B., Ticsa,I., Safta,L., Csutak,V., Mocan,R.:
Der Einfluß von intraventrikulär verabreichten Angiotensin II, Bradykinin und Eledoisin auf den arteriellen Blutdruck, die Atmung und das Elektrokardiogramm.
Acta Biol. Med. Ger. 27:435-441, 1975

41. Curl,F.D., Pollay,M.:
Transport of water and electrolytes between brain and ventricular fluid in the rabbit.
Exp. Neurology 20:558-574, 1968

42. Czernicki,Z.:
Treatment of experimental brain edema following sudden decompression, surgical wound, and cold lesion with vasoprotective drugs and the proteinase inhibitor "Trasylol".
Acta Neurochirurg. 50: 311-326, 1979

43. Czock,R., Lamprecht,W.:
Pyruvat, Phosphoenolpyruvat und D-Glycerat-2-phosphat.
in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Bergheim /Weinstr.: 1407-1411, 1970

44. Damas,J.:
L`activite kininasique du liquide cephalorachidien de l`homme, in vitro.
C.R.Soc. Biol. (Paris) 163: 2478-2483, 1969

45. Damas,J.:
La demi-vie de la bradykinine dans les espaces sous-arachnoidiens du rat.
C.R.Soc. Biol. (Paris) 166: 740-744, 1972

46. Davson,H.:
The cerebrospinal fluid.
Ergebn. Physiol. 52: 20-73, 1963

47. Davson,H.:
Physiology of Cerebrospinal Fluid.
Churchill, London, 1967

48. Davson,H.:
The blood-brain barrier.
in: Bourne, G.H. (Ed.): The structure and function of nervous tissue, IV,
Academic Press, New York-London: 321-445, 1972

49. Demopoulos, H.B., Milvy,P., Kakari,S., Ransohoff,J.:
Molecular aspects of membrane structure in cerebral edema.
in: Reulen,H.J., Schürmann,K. (Eds.): Steroids and Brain Edema. Springer,
Berlin - Heidelberg - New York: 29-39, 1972

50. Demopoulos,H.B.:
The basis of free radical pathology.
Fed. Proc. 32: 1859-1861, 1973

51. Di Chiro,G.:
Movement of the cerebrospinal fluid in human beings.
Nature (London) 204: 290-291, 1964

52. Diniz,C.R., Carvalho,I.F., Ryan,J., Rocha e Silva,M.:
A micromethod for the determination of bradykininogen in blood plasma.
Nature (London) 192: 1194-1195, 1961

53. Diniz,C.R., Carvalho,I.F.:
A micromethod for determination of bradykininogen under several conditions. in: Erdös,E.G. (Ed.): Structure and function of biologically active peptides: Bradykinin, Kallidin and Congeners. Ann. N.Y. Acad. Sc.104: 77-89, 1963

54. Documenta Geigy:
Wissenschaftliche Tabellen.
Georg Thieme, Stuttgart, 1975

55. Domer,F.R.:
Transport of ^{42}K from blood to cerebrospinal fluid in cats.
J. Physiol. (London) 158: 366-373, 1961

56. Elliott,D.F., Lewis,G.P.:
Methionyl-lysyl-bradykinin, a new kinin from ox blood.
Biochem. J. 95: 437-447, 1965

57. Erdös,E.G., Yang, H.Y.T.:
Kininases.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, XXV, Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 289-323, 1970

58. Fenske,A., Sinterhauf,K., Reulen,H.J.:
The role of monoamines in the development of cold-induced edema.
in: Pappius,H.M., Feindel,W. (Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 150-154, 1976

59. Fenstermacher, J.D., Rall, D.P., Patlak, C.S., Levin, V.A.:
Ventriculo-cisternal perfusion as a technique for analysis of brain capillary permeability and extracellular transport.
in: Crone,C., Lassen,N. (Eds.): Capillary Permeability, Munksgaard, Copenhagen/Academic Press, New York: 483-490, 1970

60. Fenstermacher, J.D., Patlak, C.S., Blasberg,R.G.:
Transport of material between extracellular fluid, brain cells and blood.
Fed. Proc. 33: 2070-2074, 1974

61. Fenstermacher,J.D., Patlak, C.S.:
The exchange of material between cerebrospinal fluid and brain.
in: Cserr, H.F., Fenstermacher, J.D., Fencl,V. (Eds.): Fluid Environment of the Brain. Academic Press, New York-San Francisco-London: 201-214, 1975

62. Fereira, S.H.:
A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of Bothrops jararaca.
Brit. J. Pharmacol. 24:163-169, 1965

63. Fereira, S.H., Moncada, S., Vane, J.R.:
Prostaglandins and the mechanism of analgesia produced by aspirin-like drugs.
Brit. J. Pharmacol. 49: 86-97, 1973

64. Frey, E.K., Kraut, H.:
Ein neues Kreislaufhormon und seine Wirkung.
Arch. Exp. Pathol. Pharmacol. 133: 1-56, 1928

65. Frey,E.K., Kraut, H., Werle,E.:
Das Kallikrein-Kinin-System und seine Inhibitoren.
Ferdinand Enke, Stuttgart, 1968

66. Fuxe, K., Ganten, D., Köhler, C., Schüll, B., Speck, G.:
Evidence for differential localization of angiotensin-I-converting enzyme and renin in the corpus striatum of rat.
Acta Physiol. Scand. 110: 321-323, 1980

67. Gabbiani,G., Badonnel,M.C., Majno,G.:
Intra-arterial injections of histamine, serotonine or bradykinin: A topographic study of vascular leakage.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 135: 447-452, 1970

68. Galicich,J.H, French,L.A., Melby, J.C.:
Use of dexamethasone in treatment of cerebral edema associated with brain tumors.
Lancet 81: 46-53, 1961

69. Gazendam,J., Go,K.G., van Zanten, A.K.:
Composition of isolated edema fluid in cold-induced brain edema.
J. Neurosurg. 51:70-77, 1979

70. Giuris,V., Heicke,B., Westermann,E.:
Über die Stimulierung der Atmung durch Bradykinin und Kallidin.
Naunyn-Schmiedeberg`s Arch. Exp. Path. Pharmak. 247: 429-444, 1964

71. Giuris,V., Heicke,B., Westermann,E.:
Apnoe nach Bradykinin und Kallidin.
Naunyn-Schmiedeberg`s Arch. Exp. Path. Pharmak. 248: 540-551, 1964

72. Gladner,J.A.:
Potentiation of the effect of bradykinin.
in: Erdös, E.G., Back,N., Sicuteri,F. (Eds.): Hypotensive Peptides. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 344-354, 1965

73. Gladner,J.A., Murtaugh, P.A., Folk, J.E., Laki,K.:
Nature of peptides released by thrombin.
in: Erdös,E.G.(Ed.): Structure and function of biologically active peptides: Bradykinin, Kallidin and Congeners. Ann. N.Y. Acad. Sc. 104: 47-52, 1963

74. Go,K.G., Gazendam,J., van Zanten,A.K.:
Influence of hypoxia on the composition of isolated edema fluid in cold-induced brain edema.
J. Neurosurg. 51: 78-84, 1979

75. Goldstein,G.W., Diamond,I.:
Transport properties of capillaries isolated from the brain.
in: Pappius,H.M., Feindel,W. (Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 7-10, 1976

76. Gonatas, N.K., Zimmermann,H.M., Levine,S.:
Ultrastructure of inflammation with edema in the rat brain.
Amer. J. Path. 42: 455-469, 1963

77. Graeff,F.G., Pela,I.R., Rocha e Silva,M.:
Behavioural and somatic effects of bradykinin injected into the cerebral ventricles of unanaesthetized rabbits.
Brit.J. Pharmacol. 37: 723-732, 1969

78. Hamberg,U.:
Cerebrospinal fluid and bradykinin release.
Biochem. Pharmacol. 3:169-171, 1960

79. Heisey, S.R., Held,D., Pappenheimer,J.R.:
Bulk flow and diffusion in the cerebrospinal fluid system of the goat.
Amer. J. Physiol. 203: 775-781, 1962

80. Henn,F.A., Goldstein,M.N., Hamberger,A.:
Uptake of the neurotransmitter candidate glutamate by glia.
Nature (London) 249: 663-664, 1974

81. Hirano,A.:
The fine structure of brain in edema.
in: Bourne,G.H. (Ed.): The structure and function of nervous tissue, II, Academic Press, New York: 69-135, 1969

82. Hoffmann,H.F., Reulen,H.J.:
Untersuchungen über Wasser- und Elektrolytstörungen beim experimentellen traumatischen Hirnödem.
Langenbeck`s Arch. Klin. Chir. 302: 151-158, 1963

83. Hohorst,H.J.,:
L-(+)-Lactat.
in: Bergmeyer, H.U.(Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim /Bergstr.: 1425-1429, 1970

84. Hooper, K.C.:
The catabolism of some physiologically active polypeptides by homogenate of dog hypothalamus.
Biochem.J. 83: 511-517, 1962

85. Hori,S.:
The presence of bradykinin-like polypeptides, kinin-releasing and destroying activity in brain.
Japan. J. Physiol. 18: 772-787, 1968

86. Hori,S., Masumura,S., Mizuta,K., Kondo,M.:
Kallikrein and their inhibitors in various tissues.
Mie Med. J. 18: 223-233, 1969

87. Horton, E.W.:
The estimation of urinary kallikrein.
J.Physiol. (London) 148: 267-282, 1959

88. Hossmann,K.A.:
Development and resolution of ischemic brain swelling.
in: Pappius,H.M., Feindel,W. (Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 219-227, 1976

89. Hossmann,K.A., Wechsler,W., Wilmes,F.:
Experimental peritumorous edema. Morphological and pathophysiological observations.
Acta Neuropath. 54: 195-203, 1979

90. Hultström,D., Svensjö,E.:
Simultaneous fluorescence and electronmicroscopical detection of bradykinin induced macromolecular leakage.
Bibl. Anat. 15: 466-468, 1977

91. Igic,R., Robinson,C.J.G., Erdös,E.G.:
Angiotensin I converting enzyme activity in the choroid plexus and in the retina.
in: Buckley,J.P., Ferrario,C.M.(Eds.): Central actions of angiotensin and related hormones. Pergamon Press, New York: 23-27, 1977

92. Iwata,H., Shimiki,T., Oka,T.:
Pharmacological significances of peptidase and proteinase in the brain (Report 1)- Enzymatic inactivation of bradykinin in rat brain.
Biochem. Pharmacol. 18: 119-128, 1969

93. Jaworek,D., Gruber,W., Bergmeyer,H.U.:
Adenosindiphosphat und Adenosinmonophosphat (ADP und AMP).
in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim /Bergstr.: 2051-2055, 1970

94. Jonsson,H.T., Daniell, H.B.:
Altered levels of PGF in cat spinal cord tissue following traumatic injury.
Prostaglandins 11: 51-61, 1976

95. Joo,F.:
Significance of adenylate cyclase in the regulation of the permeability of brain capillaries.
in: Mrsulja,B.B., Rakic,L.M., Klatzo,I., Spatz,M. (Eds.): Pathophysiology of Cerebral Energy Metabolism. Plenum Publ. Corp., New York: 211-237, 1979

96. Joyner,W.L., Carter,R.D., Raizes,G.S., Renkin,E.M.:
Influence of histamine and some other substances on blood-lymph transport of plasma protein and dextran in the dog paw.
Microvasc. Res. 7: 19-30, 1974

97. Kangasniemi,P., Riekkinen,P., Rinne,U.K.:
Kallikrein-like esterase and peptidase activities in CSF during migraine attacks and free intervals.
Headache 2:66-69, 1972

98. Kangasniemi,P., Riekkinen,P., Penttinen,R., Ivaska,K., Rinne,U.K.:
Enzyme changes in the cerebrospinal fluid and serum and their correlation to the breakdown of bradykinin during different stages of headache attacks of migraine patients.
Headache 14: 139-148, 1974

99. Katzman,R., Gonatas,N.,Levine,S.:
Electrolytes and fluids in experimental focal leukoencephalopathy.
Arch. Neurol. 10: 58-65, 1964

100. Katzman,R., Graziani,L., Kaplan,R., Escriva,A.:
Exchange of cerebrospinal fluid potassium with blood and brain. Study in normal and ouabain-perfused cats.
Arch.Neurol. 13: 513-524, 1965

101. Katzman,R., Pappius,H.M.:
Brain Electrolytes and Fluid Metabolism.
Williams and Wilkins, Baltimore, 1973

102. Kempski,O.:
Die Lokalisation des Glutamat-induzierten Hirnödems.
Thesis, München, 1982

103. Khattab,F.I.:
Alterations in acid phosphatase bodies (lysosomes) in cat motoneurons after asphyxiation of the spinal cord.
Exp. Neurol. 18: 133-140, 1967

104. Kirsch,W., Leitner,J.:
Glycolytic metabolites and co-factors in human cerebral cortex and white matter during complete ischemia.
Brain Res. 4: 358-368, 1967

105. Klatzo,I., Piraux,A., Laskowski,E.J.:
The relationship between edema, blood-brain-barrier and tissue elements in a local brain injury.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 17: 548-564, 1958

106. Klatzo,I., Wisniewski,H., Smith,D.E.:
Observations on penetration of serum-proteins into the central nervous system.
in: De Robertis, E.P.D., Carrea,R. (Eds.): Biology of Neuroglia. Progr. Brain Res. 15: 73-88, 1965

107. Klatzo,I.:
Presidential adress: Neuropathological aspects of brain edema.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 26: 1-14, 1967

108. Kobrine,A.I., Doyle,T.:
Role of histamine in posttraumatic spinal cord hyperemia and the luxury perfusion syndrome.
J. Neurosurg. 44:16-20, 1976

109. Kontos,H.A., Wei,E.P., Povlishock,J.T., Dietrich,W.D., Magiera,C.J., Ellis,E.F.:
Cerebral arteriolar damage by arachidonic acid and prostaglandin G_2.
Science 209: 1242-1245, 1980

110. Kraut,H., Frey,E.K., Bauer,E.:
Über ein neues Kreislaufhormon.II.
Hoppe Seyler`s Z. Physiol. Chem. 175: 97-106, 1928

111. Kraut,H., Werle,E.:
Der Nachweis eines Kreislaufhormons in der Pankreasdrüse. IV. Mitt. über dieses Kreislaufhormon.
Hoppe Seyler`s Z. Physiol. Chem. 189:97-114, 1930

112. Krivoy,W., Kroeger,D.:
The preservation of bradykinin by phenothiazines in vitro.
Brit. J. Pharmacol. 22:329-341, 1964

113. Kuwashima,J., Fujitani,B., Nakamura,K., Kadokawa,T., Yoshida,K.:
Biochemical changes in unilateral brain injury in the rat: a possible role of free fatty acid accumulation.
Brain Res. 110:547-557, 1976

114. Kuwashima,J., Nakamura,K., Fujitani,B., Kadokawa,T., Yoshida,K., Shimizu,M.:
Relationship between cerebral energy failure and free fatty acid accumulation following prolonged brain ischemia.
Japan. J. Pharmacol. 28:277-287, 1978

115. Laki,K., Gladner,J.A.:
Chemistry and physiology of the fibrinogen-fibrin transformation.
Physiol. Rev. 44:127-160, 1964

116. Lamprecht,W., Trautschold,I.:
Adenosintriphosphat (ATP).
in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 2024-2033, 1970

117. Lamprecht,W., Stein,P., Heinz,F., Weisser,H.:
Creatinphosphat.
in: Bergmeyer, H.U. (Ed.): Methoden der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr.: 1729-1737, 1970

118. Long,D.M., Maxwell,R., Choi,K.S.:
A new therapy regimen for brain edema.
in: Pappius,H.M., Feindel,W.: Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 293-300, 1976

119. Maier-Hauff,K.,Kempski,O., Unterberg,A., Gross,U., Lange,M., Schürer,L., Baethmann,A.:
The kallikrein-kinin-system as mediator in cerebral edema. Recent progress.
in: Brock,M., Hartmann,A. (Eds.): Treatment of Cerebral Edema (im Druck).

120. Maier-Hauff,K., Lange,M., Schürer,L., Kempski,O., Baethmann,A.:
Cerebral uptake and consumption of plasma-kininogens in brain trauma.
Agents and Actions, Suppl. 9: 408-412, 1982

121. Maier-Hauff,K.:
Habilitationsschrift, München (in Vorbereitung)

122. Mann,K., Geiger,R., Werle,E.:
A sensitive kinin liberating assay for kininogenase in rat uterine, isolated glomeruli and tubulus of rat kidney.
in: Sicuteri,F., Back,N., Haberland,G.L. (Eds.): Kinins, Pharmacodynamics and Biological Roles, Plenum Publ.Corp., New York: 65-73, 1976

123. Merlis,J.K.:
The effect of changes in the calcium content of the cerebrospinal fluid on spinal reflex activity in the dog.
Amer. J. Physiol. 131: 67-72, 1940

124. Milhorat,T.H., Clark,R.G., Hammock,M.K., McGrath,P.P.:
Structural, ultrastructural and permeability changes in the ependyma and surrounding brain favoring equilibration in progressive hydrocephalus.
Arch. Neurol. 22: 397-407, 1970

125. Milhorat,T.H.:
Pathophysiology of hydrocephalus.
in: Hydrocephalus and the Cerebrospinal Fluid. Williams and Wilkins, Baltimore: 129-145, 1972

126. Movat,H.Z.:
The plasma-kallikrein-kinin-system and its interrelationship with other components of blood.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Exp. Pharm., XXV Suppl., Springer, Berlin- Heidelberg- New York: 1-89, 1979

127. Naftchi,M.E., Demeny,M., DeCrescito,V., Tomasula,J.J., Flamm,E.S., Campell,J.B.:
Biogenic amine concentrations in traumatized spinal cords of cats. Effect of drug therapy.
J. Neurosurg. 40: 52-57, 1974

128. Nagy,Y., Pappius,H.M., Mathieson,G., Hüttner,I.:
Opening of tight junctions in cerebral endothelium. I. Effect of hyperosmolar mannitol infused through the internal carotid artery.
J. Comp. Neurol.185: 569-578, 1979

129. Nevin,N.C.:
Neuropathological changes in the white matter following head injury.
J. Neuropath. Exp. Neurol. 26: 77-84, 1967

130. Odya,C.E., Goodfriend,T.L.:
Bradykinin Receptors.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Exp. Pharm., XXV Suppl. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 287-300, 1979

131. Oettinger,W.:
Die Wirkung von Aldosteron auf das perifokale Hirnödem des Menschen.
Inauguraldissertation, München, 1975

132. Oettinger,W., Baethmann,A., Rothenfußer,W., Geiger,R., Mann,K.:
Tissue and plasma factors in cerebral edema.
in: Pappius,H.M., Feindel,W. (Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 161-163, 1976

133. Olesen,J.:
Total CO_2 , lactate and pyruvate in brain biopsies taken after freezing the tissue in situ.
Acta Neurol. Scand. 46:141-148, 1970

134. Ortega,B.D., Demopoulos, H.B., Ransohoff,J.:
Effects of antioxidants on experimental cold-induced cerebral edema.
in: Reulen,H.J., Schürmann,K. (Eds.): Steroids and Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 167-175, 1972

135. Osterholm,J.L., Bell,J.,Meyer,R., Pyensen,J.:
Experimental effects of free seotonin on the brain and its relation to brain injury. Parts I - III.
J.Neurosurg. 31: 408-421, 1969

136. Osterholm,J.L.:
Noradrenergic mediation of traumatic spinal cord autodestruction.
Life Sci. 14: 1363-1384, 1974

137. Pappenheimer,J.R., Heisey,S.R., Jordan,E.F., Downer,J.de C.:
Perfusion of the cerebral ventricular system in unanaesthetized goats.
Amer. J. Physiol. 203: 763-774, 1962

138. Pappius,H.M., Gulati,D.R.:
Water and electrolyte content of cerebral tissues in experimentally induced edema.
Acta Neuropath. 2: 451-460, 1963

139. Pappius,H.M.:
Biochemical studies on experimental brain edema.
in: Klatzo,I., Seitelberger,F. (Eds.): Brain Edema. Springer, New York: 445-460, 1967

140. Pappius, H.M., Gulati,D.R.:
Water and electrolyte content of cerebral tissues in experimentally induced edema.
Acta Neuropath. 18: 89-102, 1971

141. Pappius,H.M.:
Effects of steroids on cold injury edema.
in: Reulen,H.J., Schürmann,K.(Eds.): Steroids and Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 57-63, 1972

142. Pappius,H.M.:
Fundamental aspects of brain edema.
in: Vinken,P.J., Bruyn,G.W. (Eds.): Handbook of Clinical Neurology, Vol. 16, Part I: Tumors of the Brain and Skull. North Holland Publ., Amsterdam/American Elsevier,New York: 167-185, 1974

143. Pappius, H.M., Wolfe,L.S.:
Some further studies on vasogenic edema.
in: Pappius, H.M., Feindel,W.(Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 138-143, 1976

144. Patberg, W.R.,Go,K.G., Teelken, A.W.:
Isolation of edema fluid in cold induced cerebral edema.
Exper. Neurol. 54: 141-147, 1977

145. Pela, I.R., Gardey-Levassort, C., Lechat,P., Rocha e Silva,M .:
Brain kinins and fever induced by bacterial pyrogens in rabbits.
J. Pharm. Pharmacol. 27: 793-794, 1975

146. Perry,T.L., Hansen,S., Kennedy,J.:
CSF amino acids and plasma-CSF amino acid ratios in adults.
J. Neurochem. 24: 587-589, 1975

147. Pietra, G.G., Szidon,J.P., Leventhal,M.M., Fishman,A.P.:
Histamine and interstitial pulmonary edema in the dog.
Circ. Res. 29: 323-337, 1971

148. Raimondi, A.J., Evans, J.P.,Mullan,S.:
Studies of cerebral edema.III.Alterations in the white matter: An electron-microscopic study using ferritin as a labelling compound.
Acta Neuropath. 2: 177-197, 1962

149. Rapoport, S.I., Matthews,K., Thompson,H.K.:
Absence of brain edema after reversible osmotic opening of the blood-brain-barrier.
in: Pappius,H.M., Feindel,W. (Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 18-22, 1976

150. Rasmussen,T., Gulati,D.:
Cortisone in the treatment of post-operative brain edema.
J.Neurosurg. 19: 535, 1962

151. Rawe,S.E., Roth,R.H., Boadle-Biber,M., Collins,W.F.:
Norepinephrine levels in experimental spinal cord trauma. Part 1: Biochemical study of hemorrhagic necrosis.
J. Neurosurg. 46: 342-349, 1977

152. Reulen,H.J.:
Wasser- und Elektrolytveränderungen nach experimenteller Commotio bei der Ratte.
Inauguraldissertation, München, 1962

153. Reulen,H.J., Medzihradsky,F., Enzenbach,R., Marguth,F., Brendel,W.:
Electrolytes, fluids and energy metabolism in human cerebral edema.
Arch. Neurol. 21: 517-525, 1969

154. Reulen,H.J., Steude,U., Brendel,W., Hilber,C., Prusiner,C.:
Energetische Störung des Kationentransportes als Ursache des intrazellulären Hirnödems.
Acta Neurochirurg. 22: 129-166, 1970

155. Reulen,H.J., Schürmann,K. (Eds.):
Steroids and Brain Edema.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1972

156. Reulen,H.J., Graham,R., Fenske,A., Tsuyumu,M., Klatzo,I.:
The role of tissue pressure and bulk flow in the formation and resolution of cold-induced edema.
in: Pappius, H.M., Feindel,W.(Eds.): Dynamics of Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 103-112, 1976

157. Reulen,H.J., Tsuyumu,M., Tack,A., Fenske,A.R., Prioleau,G.R.:
Clearance of edema fluid into cerebrospinal fluid. A mechanism for resolution of vasogenic brain edema.
J. Neurosurg. 48: 754-764, 1978

158. Rocha e Silva,M., Beraldo,W.T., Rosenfeld,G.:
Bradykinin a hypotensive and smooth muscle stimulating factor released from plasma globulin by snake venom and by trypsin.
Amer. J. Physiol. 156: 261-273, 1949

159. Rothenfußer, W.:
Inauguraldissertation, München (in Vorbereitung)

160. Sachs,L.:
Angewandte Statistik: Planung und Auswertung, Methoden und Modelle. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, 1974

161. Sato,K., Yamaguchi,M., Mullan,S., Evans,J.P., Ishii,S.:
Brain edema. A study of biochemical and structural alterations.
Arch. Neurol. 21: 413-424, 1969

162. Schachter,M.:
Bradykinin and other capillary active factors.
Biochem. Pharmacol. 10: 87-94, 1962

163. Schmiedek,P., Baethmann,A., Sippel,G., Öttinger,W., Enzenbach,R., Marguth,F., Brendel,W.:
Energy state and glycolysis in human cerebral edema. The application of a new freeze-stop technique.
J. Neurosurg. 40: 351-364, 1974

164. Schröder,J.M., Wechsler,W.:
Ödem und Nekrose in der grauen und weißen Substanz beim experimentellen Hirntrauma (Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen).
Acta Neuropath. 5: 82-111, 1965

165. Schwartz,M.M., Cotran,R.S.:
Vascular leakage in the kidney and lower urinary tract: Effects of histamine, serotonine and bradykinin.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 140: 535-539, 1972

166. Shibata,S., Norris,J.W., Hodge,C.P., Pappius,H.M.:
Effects of ischemia on water and electrolyte content of cerebral tissue.
in: Reulen,H.J., Schürmann,K.(Eds.): Steroids and Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 123-125, 1972

167. Sicuteri,F., Michelacci, S.:
Prime osservazioni sull'effetto della bradichinina sul circolo cerebrale nell'uomo.
Settim.med. 49: 7-10, 1961

168. Sicuteri,F., Periti,P., Franchi,G.:
Bradichininogeno e chinine libere nel liquido cefalo rachidiano dell`uomo.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 40: 67-69, 1963

169. Sicuteri,F.:
Prophylaktische Behandlung der Migräne mit Lysergsäurederivaten.
Triangel 6: 116-125, 1963

170. Sicuteri,F., DelBianco,P.L., Fanciulacci,M., Anselmi,B.:
Liberazione di plasmachinine da diluzione del sangue nel liquido cefalo-rachidiano.
Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 41: 462-464, 1965

171. Sicuteri,F.:
Headache and meningismus evoked by lumbar and subarachnoid hemorrhage. A biochemical interpretation.
Headache 5: 108-110, 1966

172. Sicuteri,F.:
Treatment of subarachnoid and other intracranial hemorrhages with proteinase inhibitors.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 146: 682-700, 1968

173. Sicuteri,F.:
Bradykinin and intracranial circulation in man.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin and Kallikrein. Handbook of Exp. Pharm., XXV, Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 482-515,1970

174. Sicuteri,F.,Fanciulacci,M.,Bavazzano,A.,Franchi,G., Del Bianco,P.L.:
Kinins and intracranial hemorrhages.
Angiology 21: 193-210, 1970

175. Siegel,A.B., Studer,K.R., Potchen,E.J.:
Effect of dexamethasone on triethyl tin induced edema and the early edema in cerebral ischemia.
in: Reulen,H.J., Schürmann,K. (Eds.): Steroids and Brain Edema. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 113-121, 1972

176. Siesjö.B.K., Plum,F.:
Pathophysiology of anoxic brain damage.
in: Gaull,G.E. (Ed.): Biology of Brain Dysfunction, Vol.1, Plenum Press, New York-London: 319-372, 1973

177. Stead,N., Kaplan,A.P., Rosenberg,R.D.:
Inhibition of activated factor XII by antithrombin-heparin cofactor.
J. Biol. Chem. 251: 6481-6488, 1976

178. Stewart,J.M.:
Structure-activity relationships among the kinins.
in: Margoulius,M., Greenwood,F.C. (Eds.): Structure-activity relationship of protein and polypeptide hormons. Excerpta Medica, Amsterdam: 23-30, 1971

179. Stewart,J.M.:
Chemistry and biologic activity of peptides related to bradykinin.
in: Erdös, E.G. (Ed.): Bradykinin, Kallidin, and Kallikrein. Handbook of Experimental Pharmacology, XXV Suppl., Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 227-272, 1979

180. Stoner,J., Manganiello,V.C., Vaughan,M.:
Effect of bradykinin and indomethacin on cyclic GMP and cyclic AMP in lung slices.
Proc. Nat. Acad. Sci. USA 70: 3830-3833, 1973

181. Sutton,L.N., Welsh,F., Bruce,D.A.:
Bioenergetics of acute vasogenic edema.
J. Neurosurg. 53: 470-476, 1980

182. Suzuki,O., Yagi,K.:
Formation of lipoperoxide in brain edema induced by cold injury.
Experientia 30: 248, 1974

183. Svensjö,E., Persson,C.G.A., Rutili,G.:
Inhibition of bradykinin induced makromolecular leakage from post-capillary venules by β_2- adrenoreceptor stimulant, terbutaline.
Acta Physiol. Scand. 101: 504-506, 1977

184. Tans,G., Griffin,J.H.:
Initiation of contact activation by sulfatides.
Abstr., Kinin 1981 Munich, 1981

185. Terragno,N.A., Lonigro,A.J., Malik,K.U., McGiff,J.C.:
The relationship of the renal vasodilatation action of bradykinin to the release of a prostaglandin E-like substance.
Experientia 28: 437-439, 1972

186. Terragno,N.A., Terragno,A.:
Release of vasoactive substances by kinins.
in: Erdös,E.G.(Ed.): Bradykinin,Kallidin and Kallikrein. Handbook of Exp. Pharm., XXV Suppl., Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 401-426, 1979

187. Tewksbury,D.A., Stahmann,M.A.:
Potentiation of bradykinin by a liver extract.
Arch. Biochem. Biophys. 112: 453-458, 1965

188. Toda,N.:
Actions of bradykinin on isolated cerebral and peripheral arteries.
Amer. J. Physiol. 232(3): H267-274, 1977

189. Tzonos,T., Rana,B.:
Die Wirkung von Proteinase- und Fibrinolyse-Inhibitoren auf das experimentelle Hirnödem.
Z. Neurol. 205: 61-70, 1973

190. Unterberg,A., Baethmann,A., Geiger,R.:
The kallikrein-kinin-system as mediator in cerebral edema.
European Surgical Res. 13 (1): 53, 1981

191. Unterberg,A., Baethmann,A., Geiger,R.:
The kallikrein-kinin-system as mediator in cerebral edema.
Agents and Actions, Suppl. 9: 402-407, 1982

192. Van Harreveld,A., Fifkova,E.:
Light- and electronmicroscopic changes in central nervous tissue after electrophoretic injection of glutamate.
Exp. Molec. Pathol. 15: 61-81, 1971

193. Van Harreveld,A.:
The extracellular space in the verebrate central nervous system.
in: Bourne,G.H. (Ed.): The Structure and Function of Nervous Tissue, IV, Academic Press, London-New York-San Francisco: 447-511, 1972

194. Vates,T.S., Bonting,S.L.:
Role of Na-K activated ATPase in cerebrospinal fluid formation.
Fed. Proc. 22: 213, 1963

195. Wahl,M.:
The effect of morphine, enkephalin and bradykinin on cerebrovascular resistance in cats.
J. Cerebr. Blood Flow Metab. 1, Suppl. 1, 323-324, 1981

196. Welch,K.:
Secretion of cerebrospinal fluid by choriod plexus of the rabbit.
Amer. J. Physiol. 205: 617-624, 1963

197. Wendel,U., Seidel,G.:
Kinins - Evidence for the involvement in lymphostatic encephalopathy in rats.
Pharmacology 7: 17-28, 1972

198. Werle,E., Berek,U.:
Zur Kenntnis des Kallikreins.
Angewandte Chemie 60: 53, 1948

199. Werle,E., Lorenz,W.:
The antikinin action of some antihistaminic drugs on the isolated guinea pig ileum, rat uterus, and blood pressure of the anaesthetized dog.
Adv. Exp. Med. Biol. 8: 447-452, 1970

200. Westergaard,E.:
Enhanced vesicular transport of exogenous peroxidase across cerebral vessels, induced by serotonin.
Acta Neuropath. 32: 27-42, 1975

201. Woodward,D.L., Reed,D.J., Woodbury,D.M.:
Extracellular space of rat cerebral cortex.
Amer. J. Physiol. 212: 367-370, 1967

202. Yanagihara,T., Cumings,J.N.:
Lipid metabolism in cerebral edema associated with human brain tumor.
Arch. Neurol. 19: 241-247, 1968

203. Zelck,U., Konya,L., Albrecht,E.:
ATP-dependent calcium uptake by microsomal fractions of pig coronary artery and its dependence on bradykinin and angiotensin II.
Acta Biol. Med. Ger. 32: K1-5, 1974

204. Zimmermann,V., Hossmann,K.A.:
Resuscitation of the monkey brain after one hour's complete ischemia. II Brain water and electrolytes.
Brain Res. 85: 1-11, 1975

205. Zweifach,B.W.:
Microcirculatory Effects of Polypeptides.
in: Erdös,E.G., Back,N., Sicuteri,F. (Eds.): Hypotensive Peptides. Springer, Berlin-Heidelberg-New York: 451-461, 1965

Zu besonderem Dank bin ich verpflichtet:

Herrn Prof.Dr.Dr.h.c.W. BRENDEL, der mich außerordentlich freundlich in seinem Institut aufnahm,

Herrn Prof.Dr.A. BAETHMANN, der mir bei der Durchführung der Versuche mit Rat und Tat zur Seite stand, mich gründlich in wissenschaftliches Denken und Arbeiten einführte, mir bei der Interpretation und Diskussion unserer Befunde stets bereitwillig zur Verfügung stand und der es verstand, bei mir Begeisterung und Engagement für die experimentelle Neurochirurgie zu wecken,

Frl. B. KOMAREK, Frl. H. KUSCHKE und Frl. M. STEMPFLE, die mir bei der Analyse des umfangreichen Meßprogramms und beim Anfertigen der Abbildungen unermüdlich und immer freundschaftlich geholfen haben,

Frl. I. MOLL für alle geduldige Hilfe beim Schreiben der Arbeit,

Herrn Dr. R. GEIGER, Abteilung für Klinische Chemie und Biochemie an der Chirurgischen Klinik Innenstadt der Universität, der mich in die Durchführung des Kinin-Bioassays einführte und unserer Arbeitsgruppe freundlicherweise einen Meßplatz für den Kinin-Bioassay überließ,

und dem Institut für Begabtenförderung der KONRAD-ADENAUER-STIFTUNG, e.V., das mir während meines Studiums ein großzügiges Stipendium gewährte.

Bedanken möchte ich mir weiterhin bei all denen, die die vorliegende Arbeit kritisch durchgesehen haben.

LEBENSLAUF

Am 10. Oktober 1955 wurde ich als erstes Kind des Pfarrers Wilhelm Unterberg und seiner Ehefrau, der Apothekerin Ingeborg, geb. Fuchs in Schwelm/Westfalen geboren.

Von 1962-1966 besuchte ich in Schwelm die Volksschule. Daran schloß sich von 1966-1974 der Besuch des neusprachlichen Zuges des Märkischen Gymnasiums Schwelm an. Meine Reifeprüfung legte ich dort am 06. Juni 1974 ab.

Nach einem dreimonatigen Krankenpflegepraktikum am Städtischen Krankenhaus Schwelm begann ich mein Medizinstudium im Oktober 1974 an der Justus-Liebig-Universität, Gießen. Dort bestand ich die Ärztliche Vorprüfung im August 1976.

Im April 1977 wechselte ich im zweiten klinischen Semester an die Ludwig-Maximilians-Universität, München. Im Sommer 1977 legte ich den Ersten Teil der Ärztlichen Prüfung in München ab.
Nach Famulaturen an der Klinik für innere Krankheiten der LVA Westfalen in Ennepetal-Königsfeld und in der gynäkologischen Praxis Dr. Hecker, München, bestand ich den Zweiten Teil der Ärztlichen Prüfung am 14. März 1980.

Während des Praktischen Jahres arbeitete ich an der Neurochirurgischen Klinik (Dir.: Prof.Dr.F. Marguth), der Chirurgischen Klinik (Dir.: Prof.Dr.G. Heberer), am Institut für Anästhesiologie (Dir.: Prof.Dr.K. Peter) sowie an der Medizinischen Klinik II (Dir.: Prof.Dr.G. Paumgartner), alle im Klinikum Großhadern der Universität München.

Mein Studium schloß ich am 12.05.1981 mit dem Dritten Teil der Ärztlichen Prüfung ab; die Approbation als Arzt wurde mir am 18.05.1981 erteilt.

Seit Juli 1981 bin ich als wissenschaftlicher Angestellter der Deutschen Forschungsgemeinschaft und seit Mai 1982 als wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Chirurgische Forschung der Universität München (Dir.: Prof.Dr.Dr.h.c.W. Brendel) tätig.